

## HLTF 调控 Ang II 诱导的心脏成纤维细胞的作用及机制研究

刘双 张博方 陈静

(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, 湖北 武汉 430060)

**【摘要】目的** 探究解旋酶样转录因子(HLTF)对血管紧张素 II (Ang II) 诱导的心脏成纤维细胞(CF)中纤维化功能和表型的影响及作用机制。**方法** 分离培养原代小鼠 CF, 用浓度为 1  $\mu\text{mol/L}$  的 Ang II 处理 CF, 分为正常组和 Ang II 组。同时分别用腺病毒转染下调或上调 HLTF 的表达, 将细胞进一步分为下调对照+Ang II 组和下调 HLTF+Ang II 组及上调对照+Ang II 组和上调 HLTF+Ang II 组。采用 CCK-8 法和细胞划痕实验检测细胞的增殖和迁移能力。RNA 测序筛选相关差异基因。蛋白质印迹法(Western blotting)检测 HLTF、平滑肌肌动蛋白  $\alpha$  ( $\alpha$ -SMA) 和 R-spondin1 (Rspo1) 蛋白水平。实时荧光定量聚合酶链反应检测 I 型胶原蛋白  $\alpha$ 1 (COL1A1) mRNA 水平。免疫荧光染色检测  $\alpha$ -SMA 水平。**结果** Ang II 诱导 CF 后 HLTF 蛋白及 COL1A1 mRNA 水平升高, CF 增殖及迁移能力增强, 且免疫荧光染色显示  $\alpha$ -SMA 表达增强 ( $P < 0.05$ )。下调 HLTF+Ang II 组与下调对照组比, CF 中 HLTF、 $\alpha$ -SMA 蛋白及 COL1A1 mRNA 均降低, CF 增殖及迁移能力减弱 ( $P < 0.05$ )。相反上调 HLTF 进一步促进 Ang II 诱导 CF 中 HLTF、 $\alpha$ -SMA 蛋白及 COL1A1 mRNA 表达, 促进 CF 的增殖和迁移能力 ( $P < 0.05$ )。此外, RNA 测序显示在下调 HLTF 后差异基因中 Rspo1 改变最显著。同时 Western blotting 结果表明, Ang II 诱导的 CF 中 HLTF 下调或上调, Rspo1 蛋白水平相应降低或升高。**结论** 下调 HLTF 可缓解 Ang II 诱导的 CF 纤维化功能和表型转换, 且可能通过下调 Rspo1 改善心脏纤维化。

**【关键词】** 解旋酶样转录因子; 心脏成纤维细胞; 血管紧张素 II; 心脏纤维化

**【DOI】** 10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2025.02.015

## The Role and Mechanism of HLTF in Regulating Ang II Induced Cardiac Fibroblast

LIU Shuang, ZHANG Bofang, CHEN Jing

(Department of Cardiology, Renmin Hospital of Wuhan University, Cardiovascular Research Institute, Wuhan University, Hubei Key Laboratory of Cardiology, Wuhan 430060, Hubei, China)

**【Abstract】 Objective** To investigate the effect and mechanisms of helicase-like transcription factor (HLTF) on fibrosis function and phenotype in angiotensin II (Ang II)-induced cardiac fibroblasts (CF). **Methods** Primary mouse CF were isolated and cultured, and treated with 1  $\mu\text{mol/L}$  Ang II. Cells were divided into normal group and Ang II group. Additionally, adenoviral transfection was used to modulate HLTF expression, resulting in additional groups: downregulation control + Ang II group, HLTF downregulation + Ang II group, upregulation control + Ang II group and HLTF upregulation + Ang II group. Cell proliferation and migration were assessed using the CCK-8 assay and wound healing assay. RNA sequencing identified differentially expressed genes. Western blotting was used to analyze the protein levels of HLTF, smooth muscle actin  $\alpha$  ( $\alpha$ -SMA) and R-spondin1 (Rspo1). Quantitative real-time PCR assessed mRNA levels of collagen type I (COL1A1). Immunofluorescence staining was used to assess  $\alpha$ -SMA expression. **Results** Ang II stimulation increased HLTF protein and COL1A1 mRNA levels, enhanced CF proliferation and migration, and elevated  $\alpha$ -SMA expression as shown by immunofluorescence staining ( $P < 0.05$ ). Compared with the control group, the HLTF downregulation + Ang II group showed reduced levels of HLTF,  $\alpha$ -SMA protein, and COL1A1 mRNA, as well as decreased CF proliferation and migration ( $P < 0.05$ ). Conversely, HLTF upregulation promoted Ang II-induced HLTF,  $\alpha$ -SMA protein, and COL1A1 mRNA expression, further enhancing CF proliferation and migration ( $P < 0.05$ ). RNA sequencing revealed that Rspo1 was the most significantly altered gene after HLTF downregulation. Western blotting confirmed that HLTF downregulation or upregulation correspondingly decreased or increased Rspo1 protein levels in Ang II-treated CF. **Conclusion** HLTF downregulation can alleviate Ang II-induced fibrosis function and phenotype transformation in CF, potentially by suppressing Rspo1, thereby improving cardiac fibrosis.

**【Keywords】** Helicase-like transcription factor; Cardiac fibroblast; Angiotensin II; Cardiac fibrosis

基金项目: 国家自然科学基金(82470336, 82100287)

通信作者: 陈静, E-mail: chenjing1982@whu.edu.cn

心脏纤维化是心脏对应激或损伤的病理反应,几乎发生在心肌梗死、肥厚型心肌病、扩张型心肌病和糖尿病心肌病等所有类型的心脏疾病中<sup>[1]</sup>。心脏纤维化可以增加左心室的僵硬度,破坏心脏传导,损害心脏收缩和舒张功能。纤维化的存在与心血管死亡率和全因死亡率独立相关<sup>[2]</sup>。心脏成纤维细胞(cardiac fibroblast, CF)是纤维化过程的主要参与者。在初始损伤和促纤维化刺激下,静止的 CF 被激活并随后分化为肌成纤维细胞(myofibroblasts, myoFbs),表达平滑肌肌动蛋白 $\alpha$ (smooth muscle actin  $\alpha$ ,  $\alpha$ -SMA),表现出增强的增殖和分泌特性,促进细胞外基质和胶原的沉积,导致心室壁僵硬,心脏功能进行性损害,最终进展为不可逆的心力衰竭<sup>[3]</sup>。尽管抗血管紧张素药物、醛固酮拮抗剂等已被用于心脏纤维化重构的治疗,但目前心脏纤维化疾病仍缺乏基于循证医学证据的有效治疗方法。

解旋酶样转录因子(helicase-like transcription factor, HLTf)是转换/蔗糖非发酵(switch/sucrose non-fermenting, SWI/SNF)家族成员之一,具有腺苷三磷酸依赖性解旋酶活性,参与染色质重塑、DNA 损伤修复和基因转录的调控过程<sup>[4]</sup>。此外,HLTf 还在泛素-蛋白酶体途径中发挥重要作用<sup>[5]</sup>。在肿瘤研究领域,HLTf 因其可以抑制肿瘤发生和维护基因组稳定性而受到关注<sup>[6]</sup>。已有研究<sup>[7]</sup>表明 HLTf 参与新生小鼠心脏中胶原蛋白的生物合成。但 HLTf 在心脏纤维化中的作用尚不清楚。本研究旨在探讨 HLTf 在心脏纤维化中的作用并探究其潜在机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂与仪器

0.2%胶原酶Ⅱ(德国 BioFroxx 公司,2275MG100);胰蛋白酶(中国碧云天生物技术有限公司,C0201);胎牛血清(美国 Gibco 公司,10099-141);DMEM/F-12 细胞培养基(美国 HyClone 公司,SH30023.01);CCK-8 试剂盒(日本同仁,CK04);SYBR Green Master Mix 试剂盒(诺唯赞生物科技有限公司,Q111-02);血管紧张素Ⅱ(angiotensinⅡ, AngⅡ)(美国 MCE 公司, HY-13948);HLTf 抗体(武汉三鹰生物技术有限公司, 14286-1-AP); $\alpha$ -SMA(美国 Affinity 公司, AF1032);甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)(杭州贤至生物有限公司, AB-P-R 001);R-spondin1(Rspo1)抗体(武汉三鹰生物技术有限公司, 25348-1-ap)。

### 1.2 原代 CF 的分离与培养

1~3 d 龄的 SPF 级 C57BL/6J 小鼠购于三峡大学动物实验中心(实验动物生产许可证:SCXK(鄂)2022-0012),经武汉大学人民医院动物伦理委员会批准

(WDRM 动(福)第 20240802E 号)。0.1%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉乳鼠,75%乙醇中浸泡消毒,迅速取出心脏并用冰 Hanks 溶液反复冲洗。将心室组织切成约 1 mm<sup>3</sup> 的碎片,加入 0.125%胰蛋白酶 4℃过夜后,0.2%胶原酶Ⅱ多次消化后加入含 10%胎牛血清的 DMEM/F-12 完全培养液终止消化。1 200 r/min 离心 10 min 后加入培养液重悬并接种于培养瓶中。1 h 后去除非贴壁细胞,加入含 10%胎牛血清的培养液重新培养。24 h 后,当 CF 达到 80%融合时,胰蛋白酶消化细胞并传代,取第 3~5 代细胞用于实验。

### 1.3 心脏纤维化细胞模型构建

在细胞贴壁生长为 60%~70%时,加入含 AngⅡ(1  $\mu$ mol/L)的细胞完全培养基继续在 37℃下 95%空气和 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 24 h。

### 1.4 腺病毒转染

HLTf 下调的短发夹 RNA 腺病毒(Ad-shHLTf)及其对照病毒(Ad-shRNA)和 HLTf 上调病毒(Ad-HLTf)及其对照病毒(Ad-con)由上海吉凯基因公司构建。当 CF 为 50%~60%融合时,以病毒感染复数为 50 的 Ad-shHLTf 或 Ad-shRNA 分别转染细胞 4 h。随后,弃去含有腺病毒的上清,加入完全培养基继续培养 24 h。Ad-HLTf 和 Ad-con 用上述方法转染 CF。蛋白质印迹法检测 HLTf 的表达,确定病毒是否转染成功。

### 1.5 细胞分组

分离培养原代小鼠 CF 后,根据是否加入 1  $\mu$ mol/L 的 AngⅡ刺激,分为正常组和 AngⅡ组。根据是否下调 HLTf 表达,分为下调对照+AngⅡ组(Ad-shRNA+AngⅡ组)和下调 HLTf+AngⅡ组(Ad-shHLTf+AngⅡ组)。另外根据是否上调 HLTf 表达,分为上调对照+AngⅡ组(Ad-con+AngⅡ组)和上调 HLTf+AngⅡ组(Ad-HLTf+AngⅡ组)。

### 1.6 细胞增殖和迁移检测

通过 CCK-8 试剂盒评估不同组 CF 的增殖能力。将细胞以  $2 \times 10^3$  个/孔接种于 96 孔板中继续培养 12 h 贴壁,根据不同分组病毒转染 24 h 后加入 AngⅡ继续处理 24 h,每孔加入 10  $\mu$ L CCK-8 试剂后 37℃培养箱孵育 3 h,随后利用酶标仪检测 450 nm 的光密度(optical density, OD)值。

细胞用含 10%胎牛血清的 DMEM/F-12 培养基培养于 6 孔板中,当细胞密度为 70%~80%时,用无菌枪头在孔板划痕定位并拍照,根据需要加入含 1  $\mu$ mol/L AngⅡ及 1%胎牛血清的 DMEM/F-12 培养基培养细胞 24 h 后,在同一位置拍照以做对比,每组采集 6 个视野,Image J 软件统计分析划痕面积。细胞迁移率=(0 h 划痕面积-24 h 划痕面积)/0 h 划痕面积。

### 1.7 细胞免疫荧光染色

细胞种于 6 孔培养板培养至密度为 50%~60% 时,根据实验分组、目的给予相应处理(病毒转染、Ang II)后,弃原培养基,磷酸盐缓冲液漂洗 3 次,甲醛固定和 Triton X-100 通透后,用  $\alpha$ -SMA (1:200) 的一抗孵育 4 ℃ 过夜,随后二抗孵育 2 h,磷酸盐缓冲液漂洗后 DAPI 染核,荧光显微镜随机采集每个样本的荧光图像。运用 Image J 软件分析各组细胞平均荧光强度。

### 1.8 实时荧光定量聚合酶链反应

TRIzol 试剂提取细胞中的总 RNA,并用分光光度计检测吸光度比值 ( $A_{260}/A_{280}$ ),计算 RNA 浓度,随后根据试剂盒说明将 mRNA 逆转成 cDNA。使用 SYBR Green qPCR Master Mix 体系进行实时荧光定量聚合酶链反应 (real time fluorescent quantitative polymerase chain reaction, qRT-PCR)。以 GAPDH 作为内参。最后采用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  方法分析数据。I 型胶原蛋白  $\alpha 1$  (collagen type I  $\alpha 1$ , COL1A1)、GAPDH 引物序列如下: COL1A1 正向 5'-GACCCTAACCAAGGCTGCAA-3',反向 5'-GACATTAGGCGCAGGAAGGT-3'; GAPDH 正向 5'-GAGAGTGTTCCTCGTCCCGTA-3',反向 5'-CCTCACCCCATTTGATGTTAGT-3'。

### 1.9 蛋白质印迹法检测

使用 RIPA 裂解缓冲液裂解 CF 提取蛋白。取适

量蛋白原液用二喹啉甲酸法进行蛋白定量。用十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳将不同分子量的蛋白分离,用电转化法将蛋白转至聚偏二氟乙烯膜上。用 5% 脱脂牛奶室温封闭 1.5 h 后转移至一抗中 4 ℃ 摇床过夜。加入相应的二抗室温孵育 1 h 后,使用增强化学发光试剂将目的条带显影,通过 Image J 软件对蛋白灰度值进行分析。以 GAPDH 作为内参。

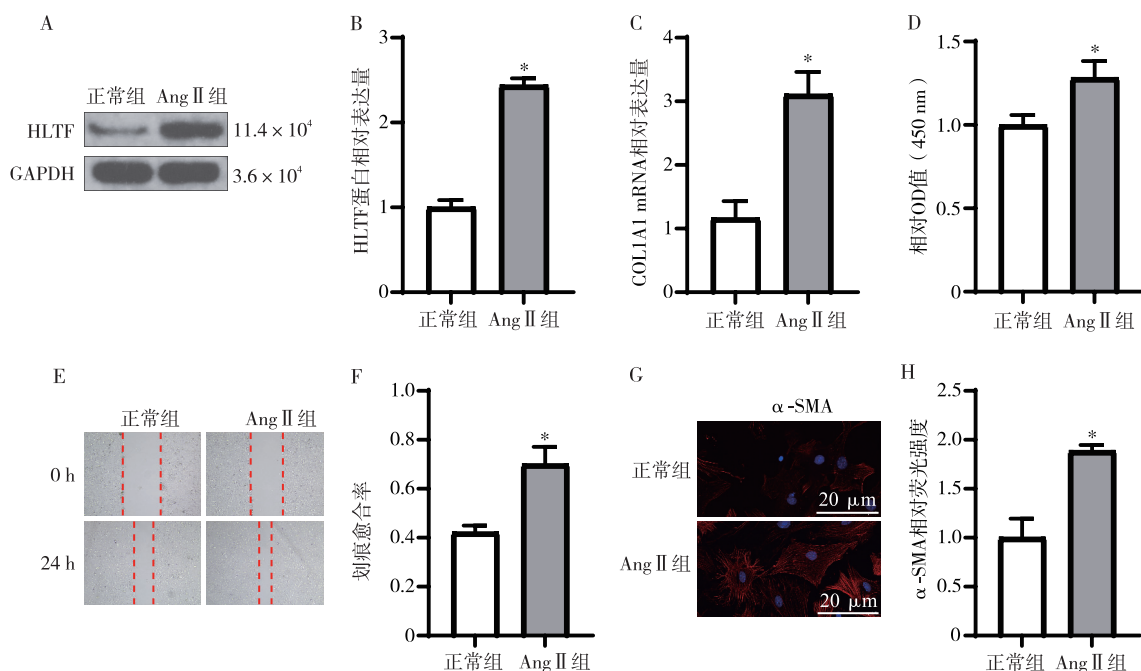
### 1.10 统计学分析

所有数据均采用 GraphPad Prism (版本 8.2.1) 和 SPSS 19.0 进行非配对  $t$  检验或单因素方差分析。计量数据采用均数 $\pm$ 标准差 ( $\bar{x}\pm s$ ) 表示,以  $P<0.05$  判定为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 Ang II 诱导 CF 中 HLTF 表达上调并且伴随细胞功能紊乱

与正常组相比,Ang II 处理显著提高了 CF 中 HLTF 蛋白表达水平,具有统计学意义;此外 COL1A1 mRNA 表达明显升高 ( $P<0.05$ ) (图 1A~C)。CCK-8 结果显示,Ang II 组 CF 的增殖能力显著增强 ( $P<0.05$ ) (图 1D),并且划痕实验进一步验证了 Ang II 组 CF 迁移能力的增强 ( $P<0.05$ ) (图 1E 和 F)。免疫荧光染色也显示 Ang II 组中  $\alpha$ -SMA 表达明显,提示 CF 向 myoFbs 表型转化(图 1G 和 H)。



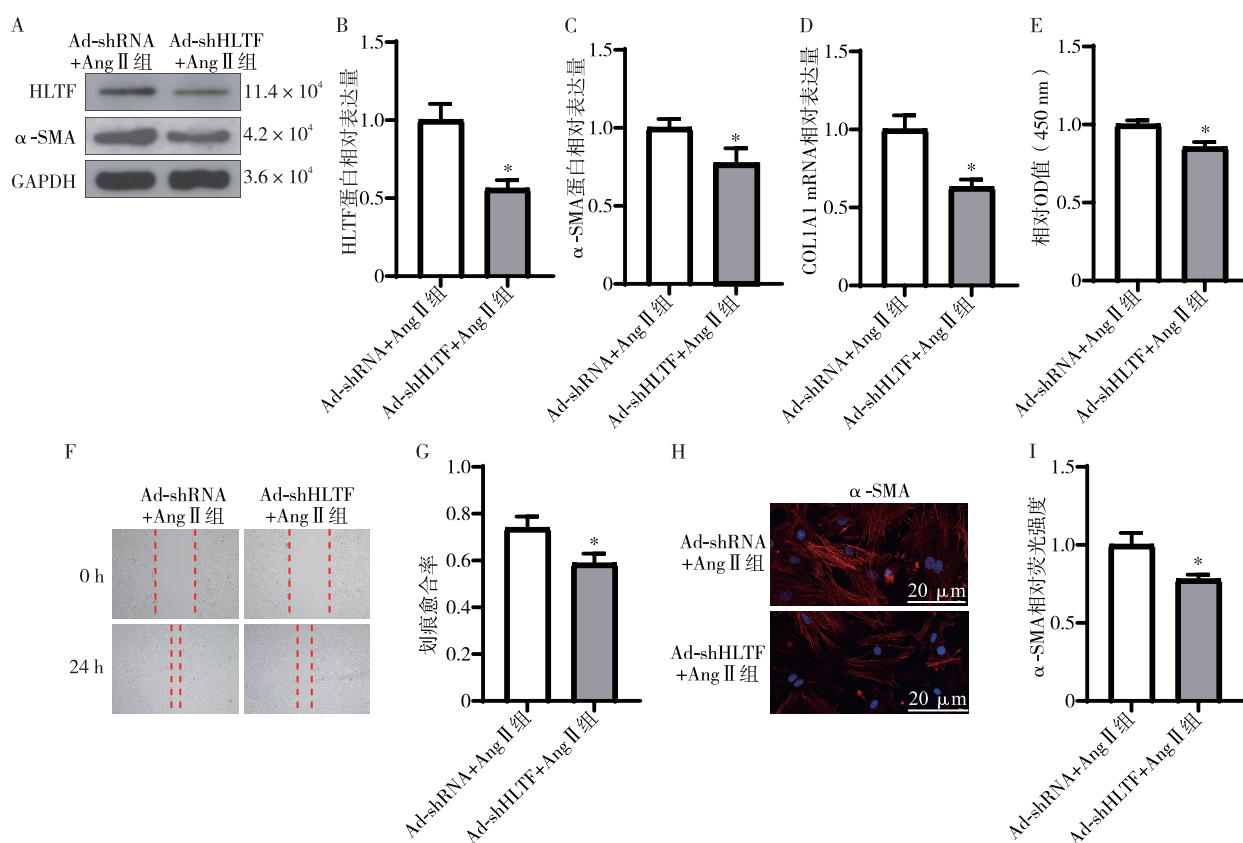
注:图 A 和 B 为检测各组 HLTF 蛋白表达水平;图 C 为检测 COL1A1 mRNA 表达水平;图 D 为 CCK8 检测细胞活力;图 E 和 F 为细胞划痕实验反映细胞迁移能力(40 $\times$ );图 G 和 H 为免疫荧光检测  $\alpha$ -SMA 表达水平(400 $\times$ )。\* 表示与正常组相比,  $P<0.05$ ,  $n=3$ 。

图 1 Ang II 诱导 CF 中 HLTF 表达上调并且伴随细胞功能紊乱

## 2.2 下调 HLTF 缓解 Ang II 诱导的 CF 功能紊乱

为了进一步探究 HLTF 对 CF 的调控作用,通过 Ad-shHLTF 腺病毒转染下调 HLTF 表达,并在 Ang II 处理后评估其对 CF 功能的影响。蛋白质印迹法 (Western blotting) 结果显示,与 Ad-shRNA+Ang II 组相比,Ad-shHLTF+Ang II 组 HLTF、 $\alpha$ -SMA 蛋白表达显著降低 ( $P<0.05$ ) (图 2A~C)。同时,qRT-PCR 检测

COL1A1 mRNA 也显著降低 ( $P<0.05$ ) (图 2D)。CCK-8 结果显示,Ad-shHLTF+Ang II 组 CF 的增殖能力较对照组降低 ( $P<0.05$ ) (图 2E),划痕实验进一步证实下调 HLTF 减弱了 CF 的迁移能力 ( $P<0.05$ ) (图 2F 和 G)。免疫荧光染色提示 Ad-shHLTF+Ang II 组中  $\alpha$ -SMA 表达下降,提示 HLTF 下调抑制 CF 向 myoFbs 表型转化 (图 2H 和 I)。



注:图 A~C 为检测 HLTF、 $\alpha$ -SMA 蛋白表达水平;图 D 为检测 COL1A1 mRNA 表达水平;图 E 为 CCK-8 检测细胞活力;图 F 和 G 为细胞划痕实验反映细胞迁移能力 (40 $\times$ );图 H 和 I 为免疫荧光检测  $\alpha$ -SMA 表达水平 (400 $\times$ )。\* 表示与 Ad-shRNA+Ang II 组相比,  $P<0.05$ ,  $n=3$ 。

图 2 下调 HLTF 缓解 Ang II 诱导的 CF 功能紊乱

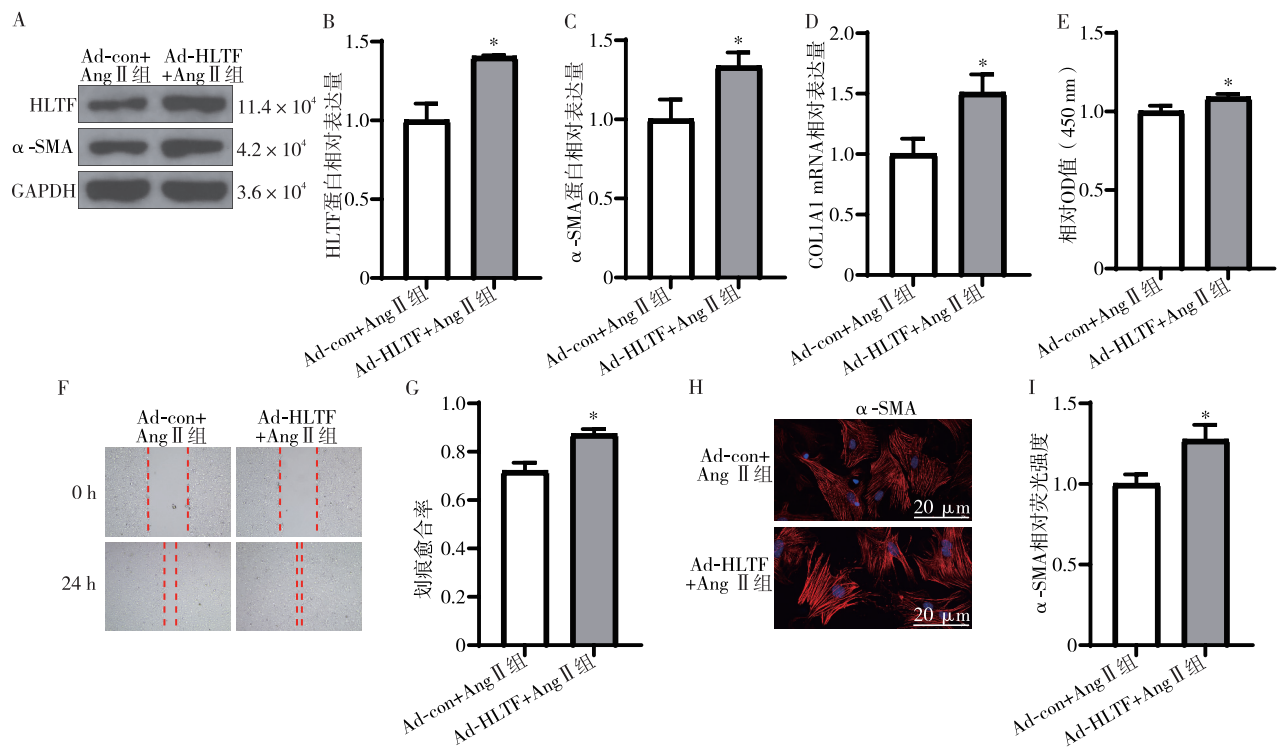
## 2.3 上调 HLTF 促进 Ang II 诱导的 CF 功能紊乱

同时笔者研究了 HLTF 上调对 CF 纤维化功能影响。Western blotting 结果显示,与 Ad-con+Ang II 组相比,Ad-HLTF+Ang II 组中 HLTF、 $\alpha$ -SMA 蛋白表达升高,差异有显著性 ( $P<0.05$ ) (图 3A~C)。同时 COL1A1 mRNA 也显著增加 ( $P<0.05$ ) (图 3D)。CCK-8 结果表明,Ad-HLTF+Ang II 组 CF 增殖能力增强 ( $P<0.05$ ) (图 3E),并且划痕实验验证了 HLTF 上调后 Ang II 诱导的 CF 迁移能力增强 ( $P<0.05$ ) (图 3F 和 G)。免疫荧光染色也证明 Ad-HLTF+Ang II 组中  $\alpha$ -SMA 表达升高,提示 CF 向 myoFbs 表型转化进一步加强 (图 3H 和 I)。

## 2.4 HLTF 调节 Rspo1 促进心脏纤维化

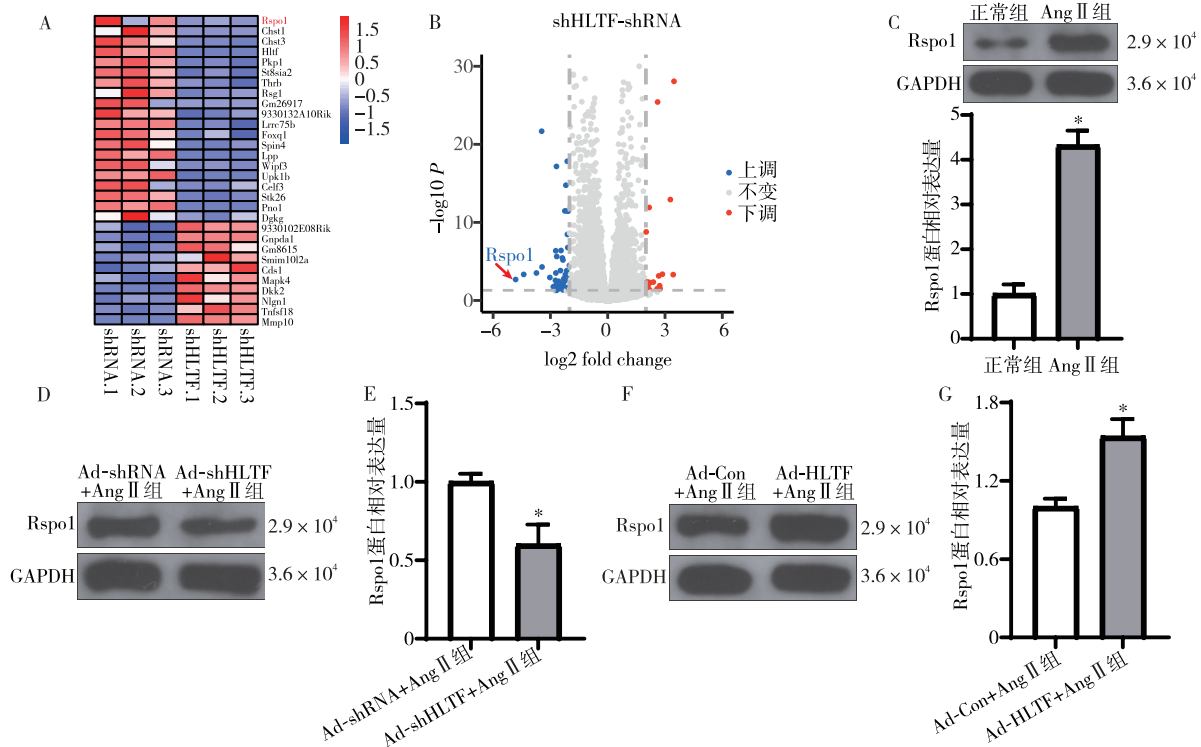
为探讨 HLTF 对 CF 纤维化调节的潜在机制,通过 RNA 测序筛选出 Ad-shRNA+Ang II 组和 Ad-shHLTF+Ang II 组间的差异基因。其中改变最为显著的 30 个基因中 Rspo1 的水平明显下调且幅度最为突出 (图 4A 和 B)。Western blotting 结果证实,与正常组相比,Ang II 组中 Rspo1 蛋白显著升高 ( $P<0.05$ ) (图 4C)。在 Ad-shHLTF+Ang II 组中,Rspo1 蛋白表达较 Ad-shRNA+Ang II 组显著降低 (图 4D 和 E),而在 Ad-HLTF+Ang II 组中 Rspo1 蛋白进一步升高 (图 4F 和 G) ( $P<0.05$ )。以上结果表明在 Ang II 诱导的 CF 中 Rspo1 的表达与 HLTF 的调控明显相关,提示 HLTF 可能通过 Rspo1 调节 CF 的功能,促进心脏纤维化。





注:图 A~C 为检测 HLTf、 $\alpha$ -SMA 蛋白表达水平;图 D 为检测 COL1A1 mRNA 表达水平;图 E 为 CCK-8 检测细胞活力;图 F 和 G 为细胞划痕实验反映细胞迁移能力(40 $\times$ );图 H 和 I 为免疫荧光检测  $\alpha$ -SMA 表达水平(400 $\times$ )。\* 表示与 Ad-con+Ang II 组相比, $P < 0.05$ ,  $n = 3$ 。

图 3 上调 HLTf 促进 Ang II 诱导的 CF 功能紊乱



注:图 A 和 B 为热图和火山图,显示 Ad-shRNA+Ang II 组与 Ad-shHLTf+Ang II 组差异基因;图 C 为检测正常组和 Ang II 组 Rspo1 蛋白水平;图 D 和 E 为检测 Ad-shRNA+Ang II 组和 Ad-shHLTf+Ang II 组 Rspo1 蛋白水平;图 F 和 G 为检测 Ad-Con+Ang II 组和 Ad-HLTf+Ang II 组 Rspo1 蛋白水平。 $\log_2$  fold change 表示基因表达倍数变化。\* 表示与各自对照组相比, $P < 0.05$ ,  $n = 3$ 。

图 4 HLTf 调节 Rspo1 促进心脏纤维化

### 3 讨论

心脏纤维化是几乎所有心脏疾病进展中的重要病理过程,导致心脏室壁僵硬和功能下降,从而加剧心力衰竭及不良结局<sup>[8]</sup>。在纤维化过程中,CF 通过增殖和分化为 myoFbs,促进胶原蛋白等细胞外基质的沉积<sup>[3,9]</sup>。多种细胞因子,如转化生长因子- $\beta$ 、Ang II、血小板衍生生长因子等是导致心脏纤维化的关键驱动力<sup>[10]</sup>。尽管对纤维化机制已有较深入研究,但目前仍缺乏有效的特异性治疗药物,这需要进一步探索纤维化的关键调控因素<sup>[11]</sup>。

HLTF 属于 SWI/SNF 家族,作为染色质重塑和泛素化途径的调控因子,在调节细胞 DNA 修复、复制和转录等过程中具有重要作用<sup>[4]</sup>。既往有研究<sup>[12]</sup>表明,HLTF 作为一种肿瘤抑制基因,在多种癌症如结肠癌、胃癌、食管癌和肺癌中往往通过甲基化而表达下调。Liu 等<sup>[13]</sup>发现,转化生长因子- $\beta$  刺激结直肠癌细胞系时,HLTF 及 Smad 相关蛋白表达增加,提示 HLTF 可能通过 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路调控细胞迁移与侵袭。此外,HLTF 在肝细胞癌中的上调通过激活 ERK/MAPK 信号通路,增强了癌细胞的增殖和转移能力<sup>[14]</sup>。在心脏领域,Helmer 等<sup>[7]</sup>的研究显示,沉默新生小鼠中的 HLTF 导致心肌间质和血管周围胶原纤维网络混乱,改变了心肌组织结构,表明 HLTF 可能在心脏组织的结构和功能维持中扮演关键角色。然而,关于 HLTF 在心脏纤维化中的作用尚未有系统的研究。本研究首次系统性地探讨了 HLTF 在 Ang II 诱导的 CF 纤维化中的作用。结果显示,Ang II 处理显著增加了 CF 中 HLTF、COL1A1 和  $\alpha$ -SMA 的表达,促进了细胞的增殖、迁移及其向 myoFbs 的表型转化。进一步的实验表明,下调 HLTF 可降低 Ang II 诱导的 CF 增殖、迁移及胶原沉积,从而缓解纤维化;相反,上调 HLTF 则促进了这些纤维化特征的增强。这些都证实 HLTF 是调控心脏纤维化的关键分子。

为探究 HLTF 调控纤维化机制,笔者通过 RNA 测序筛选出 Ad-shRNA+Ang II 组和 Ad-shHLTF+Ang II 组差异基因,其中 Rspo1 表达最为突出,且与 HLTF 水平呈正相关,提示 Rspo1 是 HLTF 调控的潜在靶分子。Western blotting 实验进一步证实了 Rspo1 的表达随 HLTF 的改变而变化。Rspo1 是一种重要的分泌性蛋白,在调控 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路中发挥关键作用,通过与受体结合,增强 Wnt 信号通路及促进  $\beta$ -catenin 的稳定和核内积累,从而调控下游基因的表达<sup>[15-16]</sup>。在肾脏和肝脏纤维化研究<sup>[17-19]</sup>中,Rspo1 已被证明通过激活 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路促进胶原沉积和纤维化进程。而 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的激活在心脏纤

维化中的作用同样至关重要<sup>[20]</sup>。小鼠主动脉缩窄模型显示,Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的激活促进了 CF 的增殖和细胞外基质的沉积,而抑制  $\beta$ -catenin 可减少 Cola1、Col3a1 和 Postn 等纤维化标志物的表达,显著改善心脏功能,并减少间质纤维化<sup>[21]</sup>。Nayakanti 等<sup>[22]</sup>发现抑制 Wnt 信号通路可通过下调 FOSL1 和 FOSL2 的转录活性减轻心脏纤维化和肥大,从而改善心脏功能。

综上所述,本研究证实了下调 HLTF 可缓解 Ang II 诱导的 CF 纤维化功能和表型转换,且可能通过下调 Rspo1 调节 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路改善心脏纤维化。这一发现为理解 CF 在心脏纤维化及心脏重构中的作用机制提供了新的视角,并为治疗心脏纤维化提供了新的研究思路。然而,本研究也存在一定的局限性,HLTF 与 Rspo1 之间的具体机制研究尚不够深入。未来的研究可能需要采用免疫共沉淀、下拉实验等方法来明确二者之间的相互关系。

### 参考文献

- [1] Weng L, Ye J, Yang F, et al. TGF- $\beta$ 1/SMAD3 regulates programmed cell death 5 that suppresses cardiac fibrosis post-myocardial infarction by inhibiting HDAC3[J]. *Circ Res*, 2023, 133(3): 237-251.
- [2] López B, Ravassa S, Moreno MU, et al. Diffuse myocardial fibrosis: mechanisms, diagnosis and therapeutic approaches [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2021, 18(7): 479-498.
- [3] Liu M, López de Juan Abad B, Cheng K. Cardiac fibrosis: myofibroblast-mediated pathological regulation and drug delivery strategies [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2021, 173: 504-519.
- [4] Elserafy M, Abugable AA, Atteya R, et al. Rad5, HLTF, and SHPRH: a fresh view of an old story [J]. *Trends Genet*, 2018, 34(8): 574-577.
- [5] Seelinger M, Otterlei M. Helicase-like transcription factor HLTF and E3 ubiquitin ligase SHPRH confer DNA damage tolerance through direct interactions with Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(3): 693.
- [6] Bai G, Kermi C, Stoy H, et al. HLTF promotes fork reversal, limiting replication stress resistance and preventing multiple mechanisms of unrestrained DNA synthesis [J]. *Mol Cell*, 2020, 78(6): 1237-1251. e7.
- [7] Helmer RA, Martínez-Zaguilón R, Dertien JS, et al. Helicase-like transcription factor (Hlft) regulates G2/M transition, Wt1/Gata4/Hif-1 $\alpha$  cardiac transcription networks, and collagen biogenesis [J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): e80461.
- [8] Han M, Liu Z, Liu L, et al. Dual genetic tracing reveals a unique fibroblast subpopulation modulating cardiac fibrosis [J]. *Nat Genet*, 2023, 55(4): 665-678.
- [9] Nagaraju CK, Robinson EL, Abdesselem M, et al. Myofibroblast phenotype and reversibility of fibrosis in patients with end-stage heart failure [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2019, 73(18): 2267-2282.
- [10] Frangogiannis NG. Cardiac fibrosis [J]. *Cardiovasc Res*, 2021, 117(6): 1450-1488.
- [11] Díez J, de Boer RA. Management of cardiac fibrosis is the largest unmet medical need in heart failure [J]. *Cardiovasc Res*, 2022, 118(2): e20-e22.
- [12] Dhont L, Masciaux C, Belayew A. The helicase-like transcription factor (HLTF) in cancer: loss of function or oncomorphic conversion of a tumor suppressor? [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73(1): 129-147.

- [13] Liu L, Liu H, Zhou Y, et al. HLTf suppresses the migration and invasion of colorectal cancer cells via TGF- $\beta$ /SMAD signaling in vitro [J]. *Int J Oncol*, 2018, 53(6):2780-2788.
- [14] Xu Y, Ke S, Lu S, et al. HLTf promotes hepatocellular carcinoma progression by enhancing SRSF1 stability and activating ERK/MAPK pathway [J]. *Oncogenesis*, 2023, 12(1):2.
- [15] de Lau WB, Snel B, Clevers HC. The R-spondin protein family [J]. *Genome Biol*, 2012, 13(3):242.
- [16] Yan KS, Janda CY, Chang J, et al. Non-equivalence of Wnt and R-spondin ligands during Lgr5<sup>+</sup> intestinal stem-cell self-renewal [J]. *Nature*, 2017, 545(7653):238-242.
- [17] Su X, Zhou G, Tian M, et al. Silencing of RSPO1 mitigates obesity-related renal fibrosis in mice by deactivating Wnt/ $\beta$ -catenin pathway [J]. *Exp Cell Res*, 2021, 405(2):112713.
- [18] Xinguan Y, Huixing Y, Xiaowei W, et al. R-spondin1 arguments hepatic fibrogenesis in vivo and in vitro [J]. *J Surg Res*, 2015, 193(2):598-605.
- [19] Zhang M, Haughey M, Wang NY, et al. Targeting the Wnt signaling pathway through R-spondin 3 identifies an anti-fibrosis treatment strategy for multiple organs [J]. *PLoS One*, 2020, 15(3):e0229445.
- [20] Tao H, Yang JJ, Shi KH, et al. Wnt signaling pathway in cardiac fibrosis: new insights and directions [J]. *Metabolism*, 2016, 65(2):30-40.
- [21] Xiang FL, Fang M, Yutzy KE. Loss of  $\beta$ -catenin in resident cardiac fibroblasts attenuates fibrosis induced by pressure overload in mice [J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1):712.
- [22] Nayakanti SR, Friedrich A, Sarode P, et al. Targeting Wnt- $\beta$ -Catenin-FOSL signaling ameliorates right ventricular remodeling [J]. *Circ Res*, 2023, 132(11):1468-1485.

收稿日期:2024-09-02

(上接第 165 页)

- [23] Tsimikas S, Gortts P, Nora C, et al. Statin therapy increases lipoprotein (a) levels [J]. *Eur Heart J*, 2020, 41(24):2275-2284.
- [24] de Boer LM, Oorthuys AOJ, Wiegman A, et al. Statin therapy and lipoprotein (a) levels: a systematic review and meta-analysis [J]. *Eur J Prev Cardiol*, 2022, 29(5):779-792.
- [25] Bhatia HS, Becker RC, Leibundgut G, et al. Lipoprotein (a), platelet function and cardiovascular disease [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2024, 21(5):299-311.
- [26] Kronenberg F, Mora S, Stroes ESG, et al. Lipoprotein (a) in atherosclerotic cardiovascular disease and aortic stenosis: a European Atherosclerosis Society consensus statement [J]. *Eur Heart J*, 2022, 43(39):3925-3946.
- [27] Tsimikas S, Viney NJ, Hughes SG, et al. Antisense therapy targeting apolipoprotein (a): a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 1 study [J]. *Lancet*, 2015, 386(10002):1472-1483.
- [28] Viney NJ, van Capelleveen JC, Geary RS, et al. Antisense oligonucleotides targeting apolipoprotein (a) in people with raised lipoprotein (a): two randomised, double-blind, placebo-controlled, dose-ranging trials [J]. *Lancet*, 2016, 388(10057):2239-2253.
- [29] Hair P, Cameron F, McKeage K. Mipomersen sodium: first global approval [J]. *Drugs*, 2013, 73(5):487-493.
- [30] 杨国立, 毛敏, 杨宝, 等. 脂蛋白 a 在心血管疾病中的研究进展 [J]. *重庆医学*, 2023, 52(23):3648-3652.
- [31] Gomez-Delgado F, Raya-Cruz M, Katsiki N, et al. Residual cardiovascular risk: when should we treat it? [J]. *Eur J Intern Med*, 2024, 120:17-24.

收稿日期:2024-04-20