

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.09.003

鞘氨醇激酶-1 抑制剂 PF-543 改善 1 型糖尿病心肌纤维化的实验研究 *

史承勇^{1,2} 刁繁荣¹ 蒋颖人² 宋晓伟¹ 唐文栋¹ 郭 显^{1,3Δ} 赵仙先^{1Δ}

(1 海军军医大学附属长海医院心血管内科 上海 200433; 2 中国人民解放军第 903 医院心血管内科 浙江 杭州 310000;

3 中国人民解放军 95247 部队医院 广东 惠州 516259)

摘要 目的:研究鞘氨醇激酶-1 抑制剂 PF-543 对 1 型糖尿病心肌纤维化的影响及其机制。**方法:**取 60 只 8 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠, 随机分为对照组、对照+PF-543 组、1 型糖尿病组及 1 型糖尿病+PF-543 组。采用禁食后一次性腹腔注射链脲佐菌素(STZ, 150 mg/kg)构建 1 型糖尿病模型。造模后每天通过腹腔注射给予溶媒或 PF-543(1 mg/kg), 持续至造模后第 16 周末。造模第 16 周末采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测心肌组织 1- 磷酸鞘氨醇(S1P)浓度; 采用心脏超声评估心脏收缩与舒张功能; Masson 三色法染色以评估心肌纤维化情况; Western blot 检测心脏转化生长因子- β 1(TGF- β 1)、I 型胶原蛋白(Col I)、III 型胶原蛋白(Col III)表达水平。**结果:**1 型糖尿病+PF-543 组小鼠血浆及心肌 S1P 水平显著低于 1 型糖尿病组(所有 $P < 0.05$)。超声结果显示, 1 型糖尿病+PF-543 组小鼠心脏左室射血分数(LVEF)显著高于 1 型糖尿病组($65.7 \pm 3.3\%$ vs $54.4 \pm 3.4\%$, $P < 0.05$), 左室舒张末期内径(LVEDD)显著小于 1 型糖尿病组($3.81 \pm 0.21\text{mm}$ vs $4.52 \pm 0.20\text{mm}$, $P < 0.05$)。Masson 三色法染色显示 1 型糖尿病+PF-543 组心肌纤维化程度显著低于 1 型糖尿病组($7.13 \pm 0.32\%$ vs $10.21 \pm 0.41\%$, $P < 0.05$)。1 型糖尿病+PF-543 组小鼠心脏 TGF- β 1、Col I 与 Col III 蛋白表达水平均低于 1 型糖尿病组(所有 $P < 0.05$)。**结论:**鞘氨醇激酶-1 抑制剂 PF-543 可显著降低 1 型糖尿病小鼠血浆与心脏 S1P 水平, 降低心脏 TGF- β 1 表达与胶原蛋白沉积, 改善 1 型糖尿病小鼠心脏纤维化与心功能。

关键词:鞘氨醇激酶-1; 1- 磷酸鞘氨醇; PF-543; 1 型糖尿病; 心肌纤维化

中图分类号:R-33; R587.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)09-1613-05

Experimental Study of Amelioration of Cardiac Fibrosis by PF-543 in Type 1 Diabetic Mice*

SHI Cheng-yong^{1,2}, DIAO Fan-rong¹, JIANG Ying-ran², SONG Xiao-wei¹, TANG Wen-dong¹, GUO Xian^{1,3Δ}, ZHAO Xian-xian^{1Δ}

(1 Department of Cardiology, Affiliated Changhai Hospital, Naval Medical University, Shanghai, 200433, China;

2 Department of Cardiology, 903 Military Hospital, PLA, Hangzhou, Zhejiang, 310000, China;

3 95247 Military Hospital, PLA, Huizhou, Guangdong, 516259, China)

ABSTRACT Objective: This study was aimed to explore the effects of PF-543, a specific inhibitor of sphingosine kinase-1 (SphK1), on cardiac fibrosis in type 1 diabetes mice. **Methods:** Sixty eight-week-old C57BL/6J mice were randomly divided into control group (n=15), control+PF-543 group (n=15), type 1 diabetes mellitus (T1DM) group (n=15), and T1DM+PF-543 group (n=15). T1DM were induced by intraperitoneally injected with streptozocin (STZ, 150 mg/kg). These control and diabetic mice were randomly received with vehicle or PF-543 (10 mg/kg/d) treatment for 16 weeks. By the end of the study, cardiac sphingosine 1 phosphate (S1P) levels were analyzed by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). Cardiac function was evaluated by echocardiography. Myocardial fibrosis was evaluated by masson trichrome staining. The cardiac expression levels of transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1), Collagen I (Col I) and Collagen III (Col III) were determined by Western blot. **Results:** Compared with T1DM group, cardiac S1P levels were significantly reduced in T1DM+PF-543 group ($P < 0.05$). PF-543 significantly increased the left ventricular ejection fractions (LVEF) in diabetic mice ($65.7 \pm 3.3\%$ vs $54.4 \pm 3.4\%$, $P < 0.05$). PF-543 also decreased the left ventricular end-diastolic diameters (LVEDD) in diabetic mice ($3.81 \pm 0.21\text{ mm}$ vs $4.52 \pm 0.20\text{ mm}$ $P < 0.05$). Moreover, PF-543 treatment reduced interstitial fibrosis in diabetic mice ($7.13 \pm 0.32\%$ vs $10.21 \pm 0.41\%$, $P < 0.05$). the cardiac expression of TGF- β 1, Col I and Col III were significantly reduced by PF-543 treatment in type 1 diabetic mice (all $P < 0.05$). **Conclusion:** PF-543 treatment significantly reduces cardiac S1P levels and ameliorates myocardial fibrosis by decreasing TGF- β 1 and collagen expression in type 1 diabetic mice.

Key words: Sphingosine kinase-1; Sphingosine 1 phosphate; PF-543; Type 1 diabetes mellitus; Cardiac fibrosis

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R587.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)09-1613-05

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81570208)

作者简介: 史承勇, 博士, 主治医师, 主要研究方向: 冠心病基础与临床研究, E-mail: 15157167101@163.com

Δ 通讯作者: 赵仙先, 主任医师, 教授, 主要研究方向: 冠心病和结构性心脏病基础与临床研究, E-mail: 13601713431@163.com

共同通讯作者: 郭显, 主治医师, 主要研究方向: 冠心病基础与临床研究, E-mail: guoxian1608@163.com

(收稿日期: 2019-01-23 接受日期: 2019-02-27)

前言

心肌纤维化是1型糖尿病患者心脏主要病理改变之一^[1,2]。脂肪因子、炎症因子与神经-内分泌因子可能在1型糖尿病心肌纤维化过程中发挥了重要作用^[3-5]。然而,目前导致1型糖尿病患者心脏纤维化的分子机制尚不完全清楚,临床也缺乏有效的干预策略。因此,阐明1型糖尿病心脏纤维化分子机制并依此研发新的治疗方法对改善1型糖尿病患者心血管疾病预后非常重要。

1-磷酸鞘氨醇(sphingosine 1 phosphate, S1P)是一种重要的细胞鞘脂类分子,在心脏主要由鞘氨醇激酶(sphingosine kinase-1, SphK1)催化生成^[6,7]。大量研究表明 S1P 在心血管系统发挥多种生物学作用,如调节心肌细胞凋亡与肥大、影响血管收缩与舒张以及调节平滑肌细胞增殖^[8,9]。S1P 孵育心脏成纤维细胞可促进其向肌成纤维细胞活化,可能参与心肌纤维化进程^[10]。临床研究表明,1型糖尿病患者血浆及心肌 S1P 水平增加^[11,12]。然而, SphK1 及其产物 S1P 在1型糖尿病心肌纤维化过程中的作用尚未见报道。因此,本文旨在观察 SphK1 特异性抑制剂 PF-543 对1型糖尿病小鼠心脏纤维化的影响。

1 材料与方

1.1 主要试剂与仪器

STZ 与 PF-543 (MCE, 中国), 其余为国产分析纯溶液; TGF- β 1、Col I、Col III、 β -actin 兔抗鼠单克隆抗体 (Abcam, 美国); Masson 三色法染色试剂盒 (Sigma, 美国); 辣根过氧化物酶标记的羊抗兔抗体、SDS-PAGE 凝胶试剂盒 (康为世纪, 中国); 小鼠 S1P ELISA 试剂盒 (R&D system, 美国); Vevo770 小动物超声系统 (VisualSonics, 加拿大); One touch II 血糖仪及试纸条 (强生, 美国); 凝胶成像系统 (Bio-Rad, 美国)。

1.2 实验方法和步骤

1.2.1 动物模型及分组 60只8周龄 C57bl6J 小鼠购自北京维通利华公司, 体重 23-25 g。将 STZ 溶于柠檬酸钠溶液 (pH=4.3) 配制 STZ-柠檬酸钠溶液, 单次腹腔注射 STZ-柠檬酸钠溶液 (150 mg/kg) 200 μ L 制作 1 型糖尿病模型。注射 72 小时后采用血糖仪检测鼠尾静脉血糖水平, 血糖 > 20 mmol/L 小鼠被确认为血糖升高。之后将溶媒或 PF-543 按 1 mg/kg/d 连续腹腔注射 16 周^[13]。动物随机分为对照组 (n=15)、对照+PF-543 组 (n=15)、1 型糖尿病组 (n=15)、1 型糖尿病+PF-543 (n=15) 组。

1.2.2 超声心动图 给予溶媒或 PF-543 处理 16 周后, 小鼠经 2% 异氟烷吸入麻醉后行超声心动图检查。获取胸骨旁短轴 M 型超声影像。利用 Vevo770 超声分析软件测量左心室舒张末期直径 (LVEDD) 与左心室收缩末期直径 (LVESD), 计算左心室射血分数 (LVEF)。

1.2.3 Masson 三色法染色 小鼠吸入异氟烷充分麻醉后, 剪开颈总动脉收集血液样本。心脏清洗后采用 4% 多聚甲醛固定过夜后石蜡包埋、切片。切片按 Masson 三色法染色试剂盒说明书依此经脱水、苏木精染色、丽春红染色、磷钼酸处理、苯胺蓝染色、分化、封片处理后, 在显微镜下观察小鼠左心室间质纤维化程度。

1.2.4 ELISA 检测心肌 S1P 水平 按照 ELISA 试剂盒说明书

的步骤, 裂解心肌组织采用 BCA 法进行蛋白定量, 再以每孔 30 μ g 蛋白上样。结果以 S1P 含量 /mg 蛋白表示。

1.2.5 Western blot 心肌组织裂解后经 BCA 法蛋白定量。将蛋白样本行 SDS-PAGE 凝胶电泳。采用电转膜法将胶中蛋白转移至硝酸纤维素膜上。采用 5% 脱脂牛奶封闭 1 小时后, 分别加入 TGF- β 1、Col I、Col III 和 β -actin 一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。之后加入二抗室温孵育 1 小时。经显影后定量分析条带密度值。

1.3 统计学分析

所有实验数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。利用 GraphPad Prism 6 软件进行分析。多组间两两比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 后的 Bonferroni 检验, $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 PF-543 对心肌 S1P 含量的影响

各组小鼠在接受溶媒或 PF-543 处理过程中无死亡。1 型糖尿病组与 1 型糖尿病 +PF-543 组两组间小鼠体重与空腹血糖均无明显差异。与对照组相比, 1 型糖尿病小鼠心肌组织中的 S1P 含量显著增高 ($P < 0.05$)。PF-543 处理显著降低了 1 型糖尿病小鼠心脏 S1P 含量 ($P < 0.05$) (图 1)。上述结果表明, 1 型糖尿病小鼠心脏出现了 S1P 的过度蓄积, 采用 PF-543 特异性抑制 S1P 生成酶 SphK1 活性可显著减少 1 型糖尿病小鼠心脏 S1P 水平。

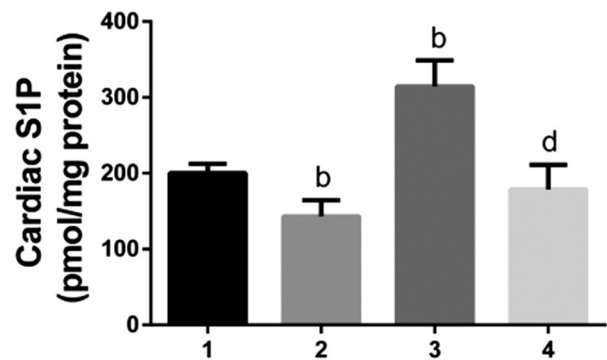


图 1 PF-543 对心肌组织 S1P 水平的影响

Fig.1 Effects of PF-543 on the level of S1P in myocardial tissue

1: 对照组; 2: 对照+PF-543 组; 3: 1 型糖尿病组; 4: 1 型糖尿病+PF-543 组。n=15。与对照组相比, $^aP < 0.05$ 。与 1 型糖尿病组相比, $^cP < 0.05$ 。

1. Control group; 2. Control+PF-543 group; 3. Type 1 diabetes mellitus group; 4. Type 1 diabetes mellitus group+PF-543 group. n=15 per group. Compared with Control group, $^aP < 0.05$. Compared with Type 1 diabetes mellitus group, $^cP < 0.05$.

2.2 PF-543 对心脏功能的影响

诱导 1 型糖尿病成模第 16 周末, 超声心动图结果显示, 1 型糖尿病组小鼠心脏 LVEF 显著降低而 LVEDD 显著增加 (均 $P < 0.05$), 而两组间 LVESD 无明显差异。这提示 1 型糖尿病小鼠出现了明显的心功能降低与左室舒张功能障碍。较 1 型糖尿病组, PF-543 处理显著地增加 1 型糖尿病小鼠心脏 LVEF ($65.7 \pm 3.3\%$ vs $54.4 \pm 3.4\%$, $P < 0.05$) 并降低 LVEDD (3.81 ± 0.21 mm vs 4.52 ± 0.20 mm), 这表明 PF-543 可以改善 1 型糖尿病小鼠心功能 (图 2)。

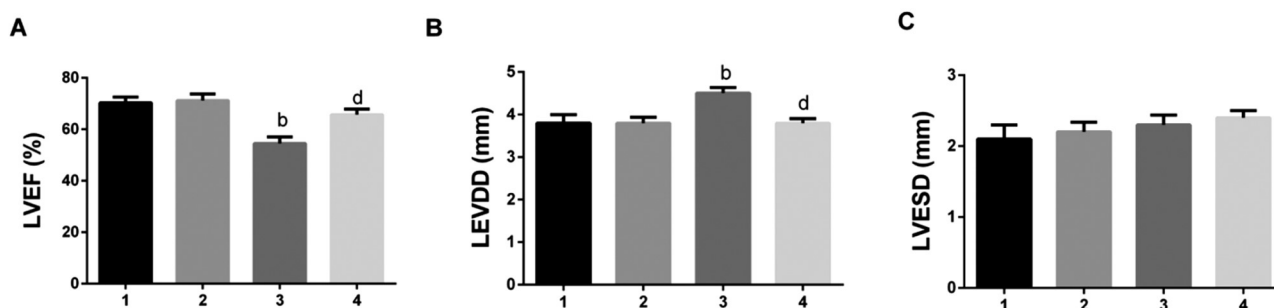


图2 PF-543 对心功能的影响

Fig.2 Effects of PF-543 on cardiac function

A:小鼠心脏左室射血分数 LVEF;B:小鼠左室舒张末期内径 LVEDD;C:小鼠左室收缩末期内径 LVESD。1:对照组;2:对照+PF-543 组;3:1 型糖尿病组;4:1 型糖尿病+PF-543 组。n=15。与对照组相比,^bP<0.05。与 1 型糖尿病组相比,^dP<0.05。

A: Left ventricular ejection fractions, LVEF; B: Left ventricular end-diastolic diameters, LVEDD; C: Left ventricular end-systolic diameters, LVESD.

1. Control group; 2. Control+PF-543 group; 3. Type 1 diabetes mellitus group; 4. Type 1 diabetes mellitus group+PF-543 group. n=15 per group.

Compared with Control group, ^bP<0.05. Compared with Type 1 diabetes mellitus group, ^dP<0.05.

2.3 PF-543 对心肌纤维化的影响

Masson 三色法染色结果表明,与对照组相比,1 型糖尿病小鼠心脏出现了明显的间质纤维化 (10.21± 0.41% vs 3.21± 0.29%, P<0.05)。PF-543 处理显著地减少了 1 型糖尿病小鼠心脏间质

纤维化的面积((7.13± 0.32% vs 10.21± 0.41%,P<0.05)。上述结果说明,PF-543 可显著地减轻 1 型糖尿病小鼠心脏间质纤维化(图 3)。

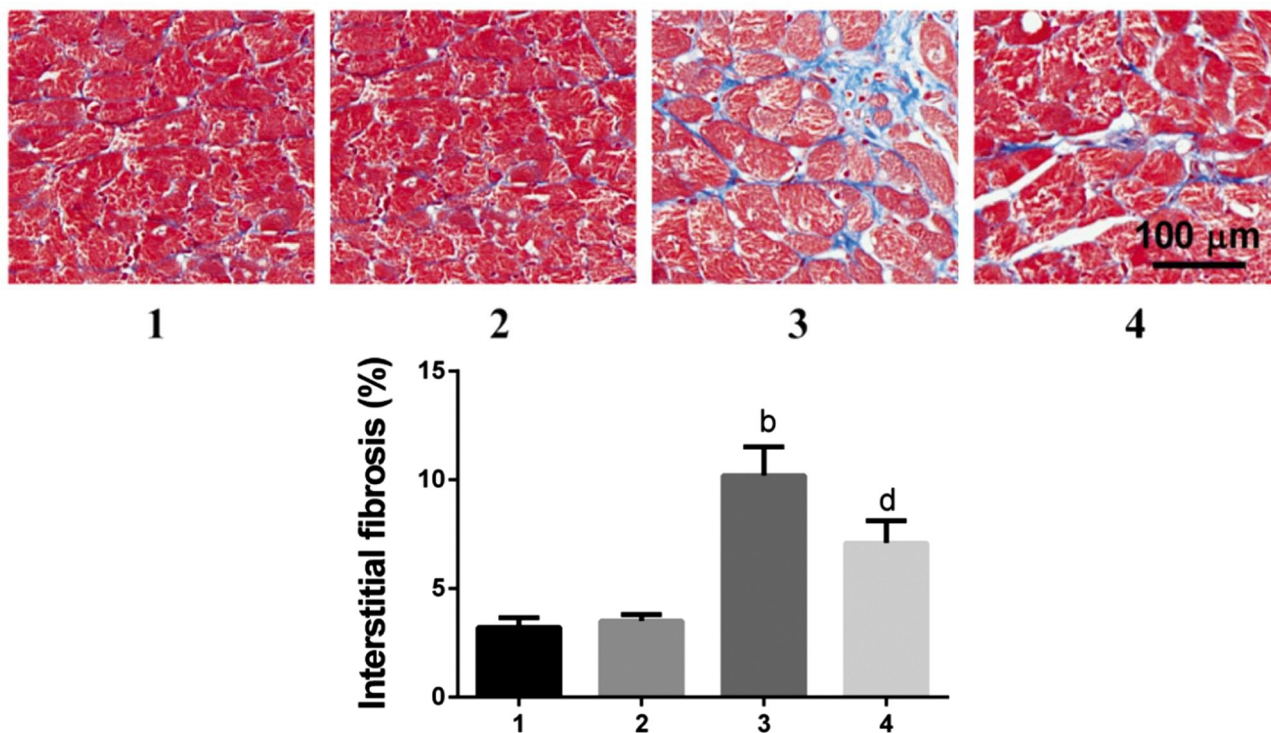


图3 PF-543 对心肌纤维化的影响

Fig.3 Effects of PF-543 on myocardial fibrosis

1:对照组;2:对照+PF-543 组;3:1 型糖尿病组;4:1 型糖尿病+PF-543 组。40 倍显微镜下观察。n=15。与对照组相比,^bP<0.05。与 1 型糖尿病组相比,^dP<0.05。

1. Control group; 2. Control+PF-543 group; 3. Type 1 diabetes mellitus group; 4. Type 1 diabetes mellitus group+PF-543 group. n=15 per group.

Compared with Control group, ^bP<0.05. Compared with Type 1 diabetes mellitus group, ^dP<0.05.

2.4 PF-543 对 TGF-β1、Col I 与 Col III 表达的影响

TGF-β1 是促进心肌纤维化的重要因子。我们采用 Western blot 检测了心脏 TGF-β1 及胶原蛋白 Col I 与 Col III 的表达水平。较对照组,1 型糖尿病小鼠心脏 TGF-β1、Col I 与 Col

III 蛋白表达水平显著增加。PF-543 处理可以显著地降低 1 型糖尿病小鼠心脏上述三种蛋白的表达水平。这些结果说明 PF-543 可以阻断 1 型糖尿病小鼠心脏 TGF-β1 的表达并减少心脏胶原蛋白沉积(图 4,均 P<0.05)。

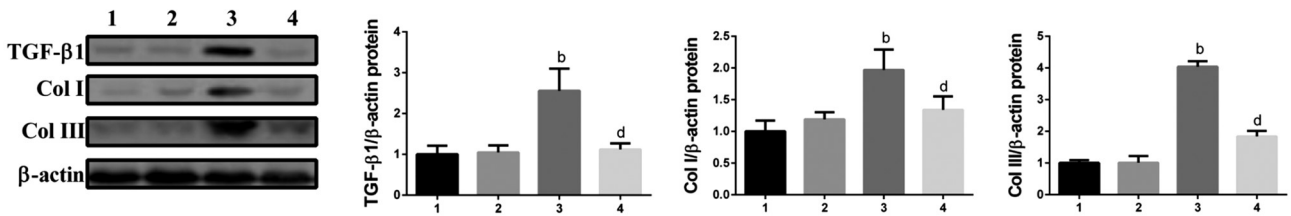


图4 PF-543对心脏TGF-β1、Col I与Col III表达的影响

Fig.4 Effect of PF-543 on the expression of cardiac TGF-β1, Col I and Col III

1:对照组;2:对照+PF-543组;3:1型糖尿病组;4:1型糖尿病+PF-543组。n=15。与对照组相比,^bP<0.05。与1型糖尿病组相比,^dP<0.05。

1. Control group; 2. Control+PF-543 group; 3. Type 1 diabetes mellitus group; 4. Type 1 diabetes mellitus group+PF-543 group. n=15 per group.

Compared with Control group, ^bP<0.05. Compared with Type 1 diabetes mellitus group, ^dP<0.05.

3 讨论

以高血糖为特征的1型糖尿病可导致严重的心血管事件,是1型糖尿病患者死亡的主要原因。心肌纤维化是1型糖尿病患者心血管常见的病理性改变之一^[1]。心肌纤维化可导致心力衰竭等不良后果,影响1型糖尿病患者预后^[14,15]。近年来认识到非心肌细胞和细胞外基质在1型糖尿病相关的心脏重构与心脏功能障碍中起着极其重要、不可忽视的作用。心肌纤维化表现为细胞外基质合成与降解的失衡,导致细胞外基质与间质胶原沉积增多,各型胶原蛋白表达显著增加,导致心肌纤维增粗,心肌僵硬增加而心室的顺应性降低,造成心脏收缩与舒张功能不全,最终导致心功能不可逆降低与心力衰竭的进展。然而,1型糖尿病导致心肌纤维化的机制尚不完全明确,寻找改善1型糖尿病心肌纤维化的有效途径具有重要意义。

糖尿病心肌纤维化是一个非常复杂的病理过程。多种致病因素如糖代谢紊乱、心脏自主神经病变与干细胞功能改变等多种因素多参与了糖尿病心肌纤维化的致病过程。糖尿病的研究揭示了代谢改变与心血管结构与功能障碍的密切联系。代谢紊乱与心脏结构与功能病变的协同作用导致了糖尿病患者心力衰竭的基站。近年来,大量研究集中于葡萄糖与脂肪代谢如何影响糖尿病心肌纤维化进展。然而,临床实践却发现强化控糖或强化降脂并不能有效地逆转或减轻糖尿病心肌纤维化。这提出了一个重要的观点,糖与脂等这些经典物质代谢通路可能不是导致糖尿病心肌纤维化的关键机制。S1P是一种广泛存在于真核细胞内的鞘脂类分子,既可作为一种细胞内的第二信使,又可作用于细胞膜表面特定的受体而发挥其重要的生物学功能,发挥关键的病理生理功能调节作用。SphK1和SphK2两种激酶可磷酸化鞘醇醇,进而生成S1P^[16]。在心脏,S1P主要有SphK1催化生成。大量既往研究报道称,S1P可依赖其细胞膜表面受体激动多种细胞生存信号,减轻缺血等有害刺激诱导的心肌细胞凋亡,发挥急性心肌保护作用^[17-19]。然而,S1P在以病理性心脏重构为主要特征的慢性心血管疾病中的作用尚存在较大的争议。有报道称,心肌梗死后小鼠心脏S1P水平显著增高,阻断S1P生成酶SphK1活性可显著减轻心肌梗死后小鼠心脏病理性重构,改善心功能与预后^[20]。抑制S1P唯一的降解酶S1P裂解酶活性可增加心肌梗死后S1P水平,加重心脏病理性重构并恶化心功能^[21]。这些结果强烈提示,过度的心脏S1P水平可能是心脏发生心肌肥大与纤维化的重要致病机制。既往报道表明,S1P加重心脏病理性重构与其促纤维化及上调TGF-β1的作用密切相关^[21]。同时,大量研究表明过度的S1P信

号参与了肺脏、肝脏和肾脏等多种器官的纤维化过程^[22-24]。本研究采用SphK1抑制剂PF-543降低1型糖尿病小鼠心脏S1P水平,观察到PF-543可显著减轻1型糖尿病小鼠的心肌纤维化。这些结果提示SphK1催化生成过多的S1P可能是1型糖尿病导致心肌纤维化的重要原因,也表明PF-543可望成为改善1型糖尿病心肌纤维化的候选分子之一。这些结果与既往报道一致,有研究表明采用PF-543阻断SphK1生成S1P可显著地改善心肌梗死后心脏纤维化,也可以显著地改善肺动脉高压导致的病理性心脏重构^[25,26]。结合本研究的发现,这些研究结果表明心脏S1P信号可能是糖尿病、缺血性心脏病、肺心病等多种心血管疾病导致心肌纤维化与病理性重构的共同致病机制之一。这些结果也强烈提示,作为SphK1特异性抑制剂,PF-543具有较好的抗心肌纤维化作用,对上述疾病所导致的心肌纤维化与病理性心脏重构具有较好的治疗潜力与应用前景。

TGF-β1是导致心肌纤维化的关键细胞因子之一,它在各器官纤维化形成过程中发挥着重要作用^[24,25]。心脏纤维化是指心肌组织中胶原纤维过度积聚,是心血管疾病发展到一定阶段的特征病理改变,可造成心脏收缩和舒张功能障碍。心脏纤维化亦是1型糖尿病心脏病变最具特征性的心脏结构改变之一。在1型糖尿病高血糖的持续刺激下,心肌组织中静息的成纤维细胞被上调的TGF-β1等内分泌因子活化,转化为具有很强胶原合成和分泌功能的肌成纤维细胞^[29,30]。TGF-β1激活的肌成纤维细胞较强的增殖、迁移与基质分泌能力是导致心肌纤维化的关键致病环节^[31]。TGF-β1能在转录和翻译水平增加胶原蛋白的合成,从而导致胶原蛋白在心脏间质中沉积^[32]。既往研究表明,TGF-β1可上调细胞内SphK1表达与S1P生成,阻断SphK1可显著地阻断TGF-β1诱导的肌成纤维细胞表型^[33,34]。这些结果表明,S1P可能是TGF-β1诱导肌成纤维细胞活化的关键下游分子机制。本课题发现,使用PF-543阻断心脏S1P生成也可显著地降低心肌TGF-β1水平。这一结果提示了非常有趣的现象,即S1P也可能作为TGF-β1上游分子调节其表达。在心肌梗死、1型糖尿病等病理情况下,S1P-TGF-β1形成一个互为上游的恶性促纤维化循环。本课题首次发现,采用PF-543可抑制1型糖尿病心脏TGF-β1的蛋白表达水平,进而降低胶原蛋白Col I和Col III在心脏的沉积。这一方面提示S1P调节心肌纤维化很可能是通过TGF-β1实现的。另一方面也表明,靶向SphK1或S1P生成可作为打断S1P-TGF-β1恶性促纤维化循环的关键策略。其中,PF-543可作为有效打断这一恶性促纤维化循环的潜力药物。综上,本研究首次观察到SphK1特异性抑制剂PF-543可显著减少1型糖尿病心脏S1P水平,阻断

TGF- β 1 和胶原蛋白表达,减轻 1 型糖尿病心肌纤维化与心功能障碍。这些结果揭示了 1 型糖尿病致心肌纤维化的关键分子机制,也为干预 1 型糖尿病心肌纤维化提供了一些潜在的靶点与策略。

参考文献(References)

- [1] 王刚,杨波. 糖尿病心肌纤维化的机制及干预[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2013, (6): 669-670
- [2] Russo I, Frangogiannis N G. Diabetes-associated cardiac fibrosis: cellular effectors, molecular mechanisms and therapeutic opportunities [J]. Journal of Molecular & Cellular Cardiology, 2016, 90: 84-93
- [3] 陈翠,孟哲颖,郑元义,等. FGF21 改善 STZ 诱导的 1 型糖尿病小鼠心肌纤维化的实验研究[J]. 实验动物科学, 2017, (02): 43-47
- [4] Feng Biao, Chen Shali, Gordon Andrew Devon, et al. miR-146a mediates inflammatory changes and fibrosis in the heart in diabetes [J]. J Mol Cell Cardiol, 2017, 105: 70-76
- [5] Li Qian, Wang Yi, Sun Shu-zhen, et al. Effects of benazepril on cardiac fibrosis in STZ-induced diabetic rats [J]. Acta Cardiol, 2010, 65: 431-439
- [6] 包馨慧. S1P 的心脏保护作用及相关信号通路的研究进展[J]. 医学综述, 2014, 20(20): 3658-3660
- [7] Lynch K R, Thorpe S B, Santos W L. Sphingosine kinase inhibitors: a review of patent literature (2006-2015)[J]. Expert Opinion on Therapeutic Patents, 2016, 26(12): 1409
- [8] 陈淑华, 阎宏伟. S1P 及其受体在心血管系统中的作用 [J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(17): 4351-4355
- [9] Levkau B. Sphingosine 1-Phosphate (S1P) Signaling in Cardiovascular Physiology and Disease[M]. Lysophospholipid Receptors: Signaling and Biochemistry, 2013
- [10] Vestri A, Pierucci F, Frati A, et al. Sphingosine 1-Phosphate Receptors: Do They Have a Therapeutic Potential in Cardiac Fibrosis?[J]. Frontiers in Pharmacology, 2017, 8: 296
- [11] Huang J, Huang K, Lan T, et al. Curcumin ameliorates diabetic nephropathy by inhibiting the activation of the SphK1-S1P signaling pathway [J]. Molecular & Cellular Endocrinology, 2013, 365 (2): 231-240
- [12] Kaipeng H, Weihua L, Tian L, et al. Berberine reduces fibronectin expression by suppressing the S1P-S1P2 receptor pathway in experimental diabetic nephropathy models[J]. Plos One, 2012, 7(8): e43874
- [13] Wang J, Knapp S, Pyne N J, et al. Crystal Structure of Sphingosine Kinase 1 with PF-543 [J]. Acs Medicinal Chemistry Letters, 2014, 5 (12): 1329
- [14] Eurich D T, Majumdar S R, Mcalister F A, et al. Improved clinical outcomes associated with metformin in patients with diabetes and heart failure[J]. Diabetes Care, 2005, 28(10): 2345
- [15] Adeghate E, Singh J. Structural changes in the myocardium during diabetes-induced cardiomyopathy[J]. Heart Failure Reviews, 2014, 19 (1): 15-23
- [16] Gustin D J, Li Y, Brown M L, et al. Structure guided design of a series of sphingosine kinase (SphK) inhibitors[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2013, 23(16): 4608-4616
- [17] Yung B S, Brand C S, Xiang S Y, et al. Selective coupling of the S1P3 receptor subtype to S1P-mediated RhoA activation and cardioprotection[J]. Journal of Molecular & Cellular Cardiology, 2016, 103: 1
- [18] Marino A, Sakamoto T, Robador P A, et al. S1P1-mediated anti-RAS cardioprotection: pivotal role of mast cell ALDH2[J]. Journal of Pharmacology & Experimental Therapeutics, 2017, 362 (2): jpet. 117.241976
- [19] Li N, Zhang F. Implication of sphingosin-1-phosphate in cardiovascular regulation[J]. Front Biosci, 2016, 21(7): 1296-1313
- [20] Meissner A, Yang J, Kroetsch J, et al. TNF -Mediated Down-Regulation of CFTR Drives Pathological S1P Signaling in a Mouse Model of Heart Failure[J]. Fuel Processing Technology, 2012, 100(100): 73-83
- [21] Meissner A, Yang J, Kroetsch J T, et al. Tumor Necrosis Factor- α -Mediated Downregulation of the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Drives Pathological Sphingosine-1-Phosphate Signaling in a Mouse Model of Heart Failure Clinical Perspective[J]. Circulation, 2012, 125(22): 2739-2750
- [22] Shea B S, Tager A M. Sphingolipid Regulation of Tissue Fibrosis[J]. Open Rheumatol J, 2012, 6(1): 123-129
- [23] Gonzálezfernández B, Sánchez D I, Gonzálezgallego J, et al. Sphingosine 1-Phosphate Signaling as a Target in Hepatic Fibrosis Therapy [J]. Front Pharmacol, 2017, 8: 579
- [24] Shea B S, Tager A M. Role of the lysophospholipid mediators lysophosphatidic acid and sphingosine 1-phosphate in lung fibrosis[J]. Proc Am Thorac Soc, 2012, 9(3): 102-110
- [25] Zhang F, Yan W, Xia Y, et al. GW25-e3467 Sphingosine 1-phosphate signaling contributes to cardiac inflammation, remodeling and dysfunction following myocardial infarction [J]. Journal of the American College of Cardiology, 2014, 64(16): C53
- [26] Xing X Q, Li Y L, Zhang Y X, et al. Sphingosine kinase 1/sphingosine 1-phosphate signalling pathway as a potential therapeutic target of pulmonary hypertension[J]. International Journal of Clinical & Experimental Medicine, 2015, 8(8): 11930-11935
- [27] Branton M H, Kopp J B. TGF- β and fibrosis[J]. Microbes & Infection, 1999, 1(15): 1349
- [28] Zhang Y, Cui L, Guan G, et al. Matrine suppresses cardiac fibrosis by inhibiting the TGF- β /Smad pathway in experimental diabetic cardiomyopathy [J]. Molecular Medicine Reports, 2018, 17 (1): 1775-1781
- [29] Bakin A V, Rinehart C, Tomlinson A K, et al. p38 mitogen-activated protein kinase is required for TGF β -mediated fibroblastic transdifferentiation and cell migration [J]. Journal of Cell Science, 2002, 115 (15): 3193-3206
- [30] Narikawa M, Umehura M, Tanaka R, et al. Acute Hyperthermia Inhibits TGF- β 1-induced Cardiac Fibroblast Activation via Suppression of Akt Signaling[J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 6277
- [31] Aharinejad S, Krenn K, Paulus P, et al. Differential role of TGF- β 1/bFGF and ET-1 in graft fibrosis in heart failure patients[J]. American Journal of Transplantation Official Journal of the American Society of Transplantation & the American Society of Transplant Surgeons, 2015, 5(9): 2185-2192
- [32] Kono Y, Nishiuma T, Nishimura Y, et al. Sphingosine Kinase 1 Regulates Differentiation of Human and Mouse Lung Fibroblasts Mediated by TGF- β 1[J]. American Journal of Respiratory Cell & Molecular Biology, 2007, 37(4): 395-404
- [33] Liu X, Hong Q, Wang Z, et al. Transforming growth factor- β -sphingosine kinase 1/S1P signaling upregulates microRNA-21 to promote fibrosis in renal tubular epithelial cells [J]. Experimental Biology & Medicine, 2015, 241(3): 265