



鸢尾素通过调控NF- κ B通路减轻糖尿病心肌病炎症反应*

张 驰, 黄 静, 杨 萍, 刘 星, 范忠才[△]

西南医科大学附属医院 心血管内科(泸州 646000)

【摘要】 目的 探究鸢尾素(irisin)在糖尿病心肌病(diabetic cardiomyopathy, DCM)中的保护作用及其机制。方法 高脂饮食联合链脲佐菌素建立DCM小鼠模型,动物实验设置对照组,DCM组,DCM+低、高剂量irisin组以及DCM+吡咯烷二硫代氨基甲酸(pyrrolidine dithiocarbamate, PDTC)[核因子(nuclear factor, NF)- κ B抑制剂]组,成功建模后irisin干预3周。采用HE、Masson染色观察心肌形态学改变;全自动生化分析仪检测血清肌酸激酶(creatinase, CK)和肌酸激酶同工酶(creatinase isoenzyme, CK-MB)水平。将H9c2细胞分为对照组、高糖/高脂(HG/HL)组、HG/HL+低剂量irisin组、HG/HL+高剂量irisin组以及HG/HL+PDTC组,CCK-8法检测细胞活力。ELISA测定心肌组织和细胞肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 和IL-6表达水平;Western blot检测心肌组织和细胞中NF- κ B p65蛋白核转移情况以及核因子 κ B抑制蛋白 α (nuclear factor- κ B inhibitor protein α , I κ B α)表达水平。结果 动物实验结果显示,低、高剂量irisin能不同程度减轻心肌组织病理损伤与纤维化,抑制CK、CK-MB和炎症因子水平,上调I κ B α 蛋白表达,抑制NF- κ B p65核转移;细胞实验结果显示,低、高剂量irisin能不同程度增强H9c2细胞活力,上调I κ B α 蛋白水平,抑制NF- κ B p65核转移和炎症因子水平。DCM+低、高剂量irisin组的上述变化与DCM+PDTC组相似。结论 irisin可能通过抑制NF- κ B p65核转移,减轻DCM小鼠心肌组织和高糖高脂诱导H9c2心肌损伤细胞中的炎症反应,发挥心肌保护作用。

【关键词】 糖尿病心肌病 鸢尾素 H9c2细胞 小鼠 炎症反应 NF- κ B核转移

Irisin Alleviates Inflammatory Injury in Diabetic Cardiomyopathy by Regulating NF- κ B Pathway ZHANG Chi, HUANG Jing, YANG Ping, LIU Xing, FAN Zhong-cai[△]. Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China

[△] Corresponding author, E-mail: zhongcai9665@126.com

【Abstract】 Objective To investigate the protective effect of irisin in diabetic cardiomyopathy (DCM) and its mechanism. **Methods** A mouse model of DCM was established by high-fat diet combined with the injection of streptozotocin. The mice were assigned to a control group, a DCM group, a DCM+low-dose irisin group, a DCM+high-dose irisin group, and a DCM+pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC) (nuclear factor [NF]- κ B inhibitor) group. Then, the mice received irisin intervention for 3 weeks after successful modeling. Myocardial morphologic changes were observed by hematoxylin and eosin (HE) staining and Masson staining. The levels of serum creatine kinase (CK) and creatine kinase isoenzyme CK-MB were examined by automatic biochemical analyzer. H9c2 cells were divided into the control group, high glucose and high lipid (HG/HL) group, HG/HL+low-dose irisin group, HG/HL+high-dose irisin group, and HG/HL+PDTC group. CCK-8 assay was conducted to determine cell viability. The expression levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin (IL)-1 β , and IL-6 in the myocardial tissue and the cells were determined by ELISA. In addition, nuclear translocation of NF- κ B p65 protein and the protein expression level of NF- κ B inhibitor protein α (I κ B α) in the myocardial tissue and the cells were determined by Western blot. **Results** According to the results of animal experiment, low and high doses of irisin could alleviate the pathological injury and fibrosis of myocardial tissue to varying degrees. Irisin inhibited the levels of CK, CK-MB, and inflammatory factors, up-regulated I κ B protein expression, and diminished NF- κ B nuclear translocation. According to the results of cell experiment, low and high doses of irisin could enhance H9c2 cell viability to varying degrees, increase the level of intracellular I κ B proteins, and inhibit NF- κ B p65 nuclear translocation and inflammatory factor expression. The changes in these aspects in the DCM+low-dose irisin group and the DCM+high-dose irisin group were similar to those in the DCM+PDTC group. **Conclusion** Through inhibiting NF- κ B p65 nuclear translocation, irisin may reduce the inflammatory response in the myocardial tissue of DCM mice and H9c2 cells of myocardial injury induced by high glucose and high fat, thereby exerting a protective effect on myocardium.

* 四川省心血管疾病防治协同创新中心项目(No. xtcx2016-17)、四川省医学会高血压疾病(施慧达)专项科研项目(No. 2018SHD2-1)和四川省卫生和计划生育委员会科研项目(No. 17PJ014)资助

[△] 通信作者, E-mail: zhongcai9665@126.com

【Key words】 Diabetic cardiomyopathy Irisin H9c2 cells Mice Inflammatory response
NF- κ B nuclear translocation

糖尿病心肌病(diabetic cardiomyopathy, DCM)是糖尿病的重要并发症,由于疾病的高死亡率,逐渐成为临床研究关注的重点。已知多种病理机制可共同导致DCM发生与发展,包括代谢途径改变、炎症与氧化应激水平升高、线粒体功能障碍等,其中炎症反应被认为是DCM病理发展中关键的触发因素^[1]。因此,抑制心肌炎症可能成为遏制DCM发展进程的有效手段。

鸢尾素(irisin)是近年来发现的新型肌肉因子,大量研究证实了它具有调节脂肪代谢、抗炎、抗氧化、抗肿瘤、抑制细胞凋亡等多种生物学特性^[2-5]。目前irisin抗炎作用被运用到各种实验模型中,如irisin通过抑制NOD结构域样受体3(NOD-like receptor protein 3, NLRP3)炎症小体的激活减弱自发性高血压大鼠主动脉外膜炎反应^[6];irisin还通过激活腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)/沉默信息调节因子1(silent information regulator 1, SIRT1)通路来抑制炎症和细胞凋亡,改善脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的肺泡上皮屏障功能障碍^[7]。既往研究报道irisin还能抑制AMPK/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)信号通路,改善高糖诱导的心肌炎症反应^[8],但irisin是否通过调控核因子(nuclear factor, NF)- κ B信号通路进而减轻DCM中炎症反应仍有待探索。因此,本研究采用体内与体外实验相结合的方式,建立DCM小鼠模型与H9c2心肌细胞损伤模型,探究DCM中irisin的抗炎作用及其可能机制,为疾病的治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物和细胞

SPF级健康6周龄雄性C57BL/6小鼠15只,体重(18.9 $\pm$ 0.8) g,购自成都达硕实验有限公司,动物许可证号:SCXK(川)2019-031。饲养于西南医科大学附属医院恒温动物实验室,温度(24 $\pm$ 2)℃,实验期间所有小鼠自由摄食、饮水,并保持12 h光照昼夜交替。本研究所有操作均符合西南医科大学伦理委员会要求(批准文号:swmu20220009)。

本实验所用H9c2心肌细胞购自赛百慷生物技术股份有限公司。

1.2 主要药品及试剂

irisin(粉剂,1 mg/瓶)购自美国Novoprotein公司(货号为CM35),使用前充分溶于无菌水并分装、冻存,使用时根据目标浓度进行稀释;链脲佐菌素购自Solarbio公司

(货号S8050);肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)试剂盒、白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 试剂盒和IL-6试剂盒购自ELK Biotechnology公司(货号依次为ELK1396、ELK1272、ELK1158);吡咯烷二硫代氨基甲酸(pyrrolidine dithiocarbamate, PDTTC)、CCK-8试剂盒购自碧云天公司(货号依次为S1809、C0038);RIPA总蛋白裂解液、BCA蛋白质浓度测定试剂盒、浆蛋白与核蛋白提取试剂盒和ECL化学发光检测试剂盒均购自美国ASPEN公司(货号依次为AS1004、AS1086、AS1005、AS1059);内参 β -actin购自天德悦公司(货号为TDY051);内参Histone H3、NF- κ B p65抗体、核因子 κ B抑制蛋白 α (nuclear factor- κ B inhibitor protein α , I κ B α)抗体均购自美国CST公司(货号依次为#4499、#8242、#4812);HRP标记山羊抗兔二抗购自美国ASPEN公司(货号为AS1107)。

1.3 动物实验分组及处理

所有雄性C57BL/6小鼠适应性喂养1周,随机分为对照组、DCM组、DCM+低剂量irisin组、DCM+高剂量irisin组以及DCM+PDTTC组,每组各3只,参考实验方法^[9]建立DCM小鼠模型。对照组予以普通标准饲料,DCM各组予以高脂饲料,喂养4周后,禁食不禁水12 h,DCM各组腹腔注射链脲佐菌素100 mg/kg,对照组以等容积的柠檬酸钠缓冲液代替,2周后小鼠尾静脉取血测随机血糖,把随机血糖高于16.7 mmol/L作为2型糖尿病(diabetes mellitus type 2, T2DM)小鼠建模成功的标准,并继续喂养高脂饮食10周以建立DCM模型。随后DCM+低剂量irisin组和DCM+高剂量irisin组分别腹腔注射0.5 mg/kg和1 mg/kg irisin,DCM+PDTTC组腹腔注射50 mg/kg PDTTC连续3周,对照组和DCM组以等容积蒸馏水代替^[10-11]。

1.4 动物取材

实验结束后腹腔注射戊巴比妥钠麻醉,经小鼠心脏取血,静置后离心,取上清,-80℃保存备用;颈椎离断处死小鼠后,迅速取心,将心脏组织分为两部分,心尖部用体积分数为4%多聚甲醛固定,心底部-80℃冰箱冻存。

1.5 全自动生化分析仪测定小鼠血清心肌酶水平

AU-2700型全自动生化分析仪(日本Olympus公司)检测小鼠血清肌酸激酶(creatine kinase, CK)和肌酸激酶同工酶(creatine kinase isoenzyme, CK-MB)水平。

1.6 HE及Masson染色观察心脏组织形态学改变

取经体积分数为4%多聚甲醛固定的心脏组织标本并制作石蜡切片,行HE染色及Masson染色,普通光学显

显微镜下观察,利用Image-Pro plus 6.0图像分析软件测定心肌胶原容积分数(collagen volume fraction, CVF)。

1.7 细胞分组及干预

将H9c2细胞复苏后加入含10%胎牛血清和1%双抗的低糖DMEM培养基(含5.5 mmol/L葡萄糖)中,于CO₂恒温培养箱中培养(体积分数为5%CO₂, 37 ℃),待细胞增殖融合至70%~80%时,用胰酶消化并传代,取对数生长期细胞进行后续实验。参考既往研究^[12]将H9c2细胞分为5组:对照组、高糖/高脂(HG/HL)组、HG/HL+低剂量irisin组、HG/HL+高剂量irisin组以及HG/HL+PDTC组。对照组加入低糖DMEM培养基培养48 h; HG/HL组加入含33.0 mmol/L葡萄糖和500 μ mol/L棕榈酸的DMEM培养基处理48 h。HG/HL+低、高剂量irisin组先加入含33.0 mmol/L葡萄糖和500 μ mol/L棕榈酸的DMEM培养基处理24 h,再分别加入质量浓度为50 ng/mL、100 ng/mL的irisin继续培养24 h; HG/HL+PDTC组同样先加入含33.0 mmol/L葡萄糖和500 μ mol/L棕榈酸的DMEM培养基处理24 h,再加入100 μ mol/L PDTC继续培养24 h^[13]。

1.8 CCK-8检测细胞活力

取各组细胞用胰蛋白酶消化,制成浓度为 1×10^5 mL⁻¹的细胞悬液后,接种于96孔板,每孔100 μ L。根据CCK-8试剂盒说明书操作,酶标仪检测各孔450 nm处吸光度(A),并按公式计算细胞活力。细胞活力=(实验组A值-空白组A值)/(对照组A值-空白组A值) $\times 100\%$ 。

1.9 ELISA检测炎症因子TNF- α 、IL-1 β 、IL-6水平

取各组小鼠心肌匀浆与H9c2细胞上清液,按照TNF- α 、IL-1 β 、IL-6试剂盒说明书进行操作,采用ELISA法,在酶标仪450 nm波长处测定各组光密度(optical density, OD)值,并根据OD值绘制标准曲线,根据公式计算出各组TNF- α 、IL-1 β 和IL-6水平。

1.10 Western blot检测NF- κ B信号通路相关蛋白水平

取各组小鼠心肌匀浆与H9c2细胞,按照浆蛋白与核蛋白提取试剂盒说明书提取浆蛋白与核蛋白,BCA法测定提取的蛋白质浓度,加样等量蛋白至凝胶电泳分离,并转移至PVDF膜上,5%脱脂奶粉室温封闭1 h后,加入一抗NF- κ B p65(1:3 000)、I κ B α (1:1 000)、 β -actin(1:10 000)、Histone H3(1:10 000)4 ℃下孵育过夜, TBST洗涤3次后加入相应二抗(1:10 000)室温孵育1 h, ECL显影, AlphaEaseFC软件处理系统分析免疫反应带。以目的条带OD值与内参条带OD值的比值作为目的蛋白的相对表达量。

1.11 统计学方法

计量数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组独立、正态、方差齐

资料组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用最小显著差法(least-significant difference, LSD), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 irisin对DCM小鼠心脏组织形态学以及血清心肌酶水平的影响

HE和Masson染色结果显示,对照组中心肌细胞排列走向整齐,边界清晰,细胞间隙正常,几乎无蓝染胶原纤维;与对照组相比,DCM组,DCM+低、高剂量irisin组以及DCM+PDTC组心肌细胞排列杂乱无序,间隙模糊,出现明显的水肿和肥大,可见蓝染胶原纤维沉积,且心肌CVF明显增加($P < 0.05$);与DCM组相比,DCM+低、高剂量irisin组以及DCM+PDTC组中心肌细胞排列较整齐,形态大致完整,细胞水肿减轻,蓝染胶原纤维和CVF均不同程度降低($P < 0.001$)(图1)。

小鼠血清心肌酶谱提示,与对照组相比,DCM组,DCM+低、高剂量irisin组以及DCM+PDTC组小鼠血清CK和CK-MB水平增加($P < 0.05$);与DCM组相比,DCM+低、高剂量irisin组以及DCM+PDTC组CK和CK-MB水平降低($P < 0.001$)(图1)。

2.2 irisin对高糖高脂诱导的H9c2细胞活力的影响

与对照组相比, HG/HL组, HG/HL+低、高剂量irisin组以及HG/HL+PDTC组均抑制H9c2细胞活力($P < 0.001$);与HG/HL组相比, HG/HL+低、高剂量irisin组以及HG/HL+PDTC组均不同程度上调H9c2细胞活力($P < 0.01$)(图2)。

2.3 irisin对DCM小鼠心肌组织和高糖高脂诱导H9c2细胞炎症因子水平的影响

动物实验中,与对照组相比,DCM组,DCM+低、高剂量irisin组以及DCM+PDTC组中TNF- α 、1L-1 β 和1L-6水平升高($P < 0.05$),而与DCM组相比,DCM+低、高剂量irisin组以及DCM+PDTC组中TNF- α 、1L-1 β 及1L-6表达则不同程度降低($P < 0.001$)。细胞实验中,与对照组相比, HG/HL组, HG/HL+低、高剂量irisin组以及HG/HL+PDTC组中TNF- α 、1L-1 β 和1L-6水平升高($P < 0.001$);而与HG/HL组相比, HG/HL+低、高剂量irisin组以及HG/HL+PDTC组中TNF- α 、1L-1 β 及1L-6水平则不同程度降低($P < 0.01$)(图3)。

2.4 irisin对DCM小鼠心肌组织和高糖高脂诱导H9c2细胞NF- κ B相关蛋白的影响

动物实验中,与对照组相比,DCM组,DCM+低、高剂量irisin组及DCM+PDTC组细胞核内NF- κ B p65增多,

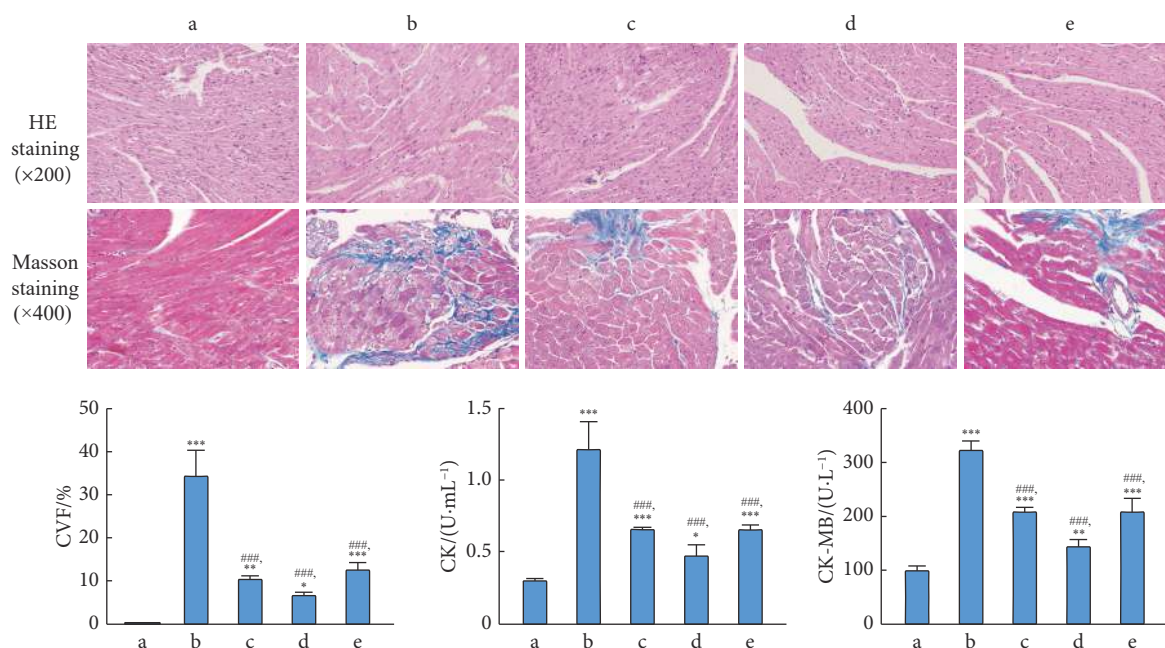


图 1 各组小鼠心脏病理变化以及血清CK、CK-MB的表达水平

Fig 1 Pathological changes of the heart and expression levels of CK and CK-MB in each group

CVC: collagen volume fraction. a: Control group; b: DCM group; c: DCM+low-dose irisin group; d: DCM+high-dose irisin group; e: DCM+PDTC group. * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, vs. a group; ### $P<0.001$, vs. b group. $n=3$.

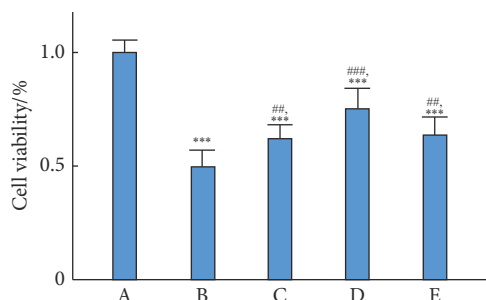


图 2 各组H9c2细胞的细胞活力

Fig 2 Cell viability of H9c2 cells in each group

A: Control group; B: HG/HL group; C: HG/HL+low dose irisin group; D: HG/HL+high dose irisin group; E: HG/HL+PDTC group. *** $P<0.001$, vs. A group; ## $P<0.01$, ### $P<0.001$, vs. B group. $n=3$.

细胞浆内NF- κ B p65减少, I κ B- α 蛋白表达被抑制($P<0.05$); 而与DCM组相比, DCM+低、高剂量irisin组及DCM+PDTC组不同程度降低细胞核内NF- κ B p65水平($P<0.001$), 升高细胞浆内NF- κ B p65水平($P<0.01$), 上调I κ B- α 蛋白表达($P<0.05$)。细胞实验中, 与对照组相比, HG/HL组, HG/HL+低、高剂量irisin组及HG/HL+PDTC组细胞核内NF- κ B p65增多, 细胞浆内NF- κ B p65减少, I κ B- α 蛋白表达被抑制($P<0.001$); 而与HG/HL组相比, HG/HL+低、高剂量irisin组及HG/HL+PDTC组不同程度降低细胞核内NF- κ B p65水平, 升高细胞浆内NF- κ B p65($P<0.01$), 上调I κ B- α 蛋白表达($P<0.001$) (图4)。

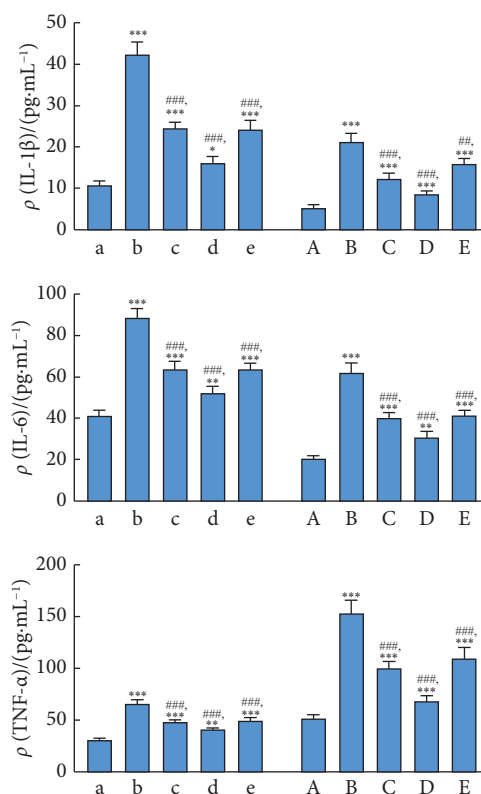


图 3 各组小鼠心肌组织与H9c2细胞炎症因子水平

Fig 3 The contents of inflammatory factors in the H9c2 cells and heart tissues of mice in each group

a-e denote the same as those in Fig 1 (mice); A-E denote the same as those in Fig 2 (cells). * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, vs. a or A group; ## $P<0.01$, ### $P<0.001$, vs. b or B group. $n=3$.

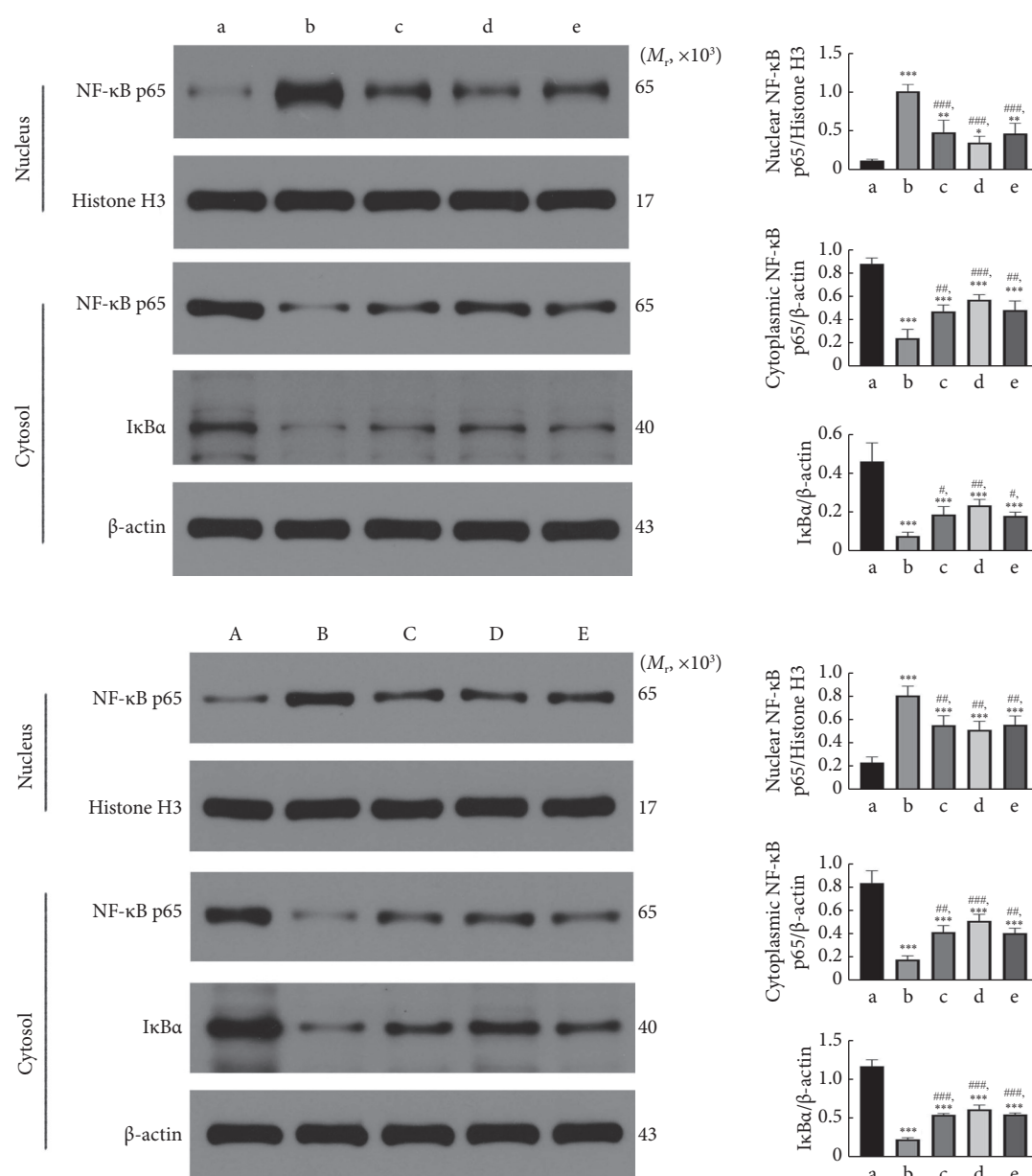


图4 各组小鼠心肌组织与H9c2细胞NF- κ B相关蛋白的表达

Fig 4 Expression of NF- κ B related proteins in the heart tissue and H9c2 cells of mice in each group

a-e denote the same as those in Fig 1 (mice); A-E denote the same as those in Fig 2 (cells). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, vs. a or A group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$, vs. b or B group. $n=3$.

3 讨论

DCM是由糖脂代谢紊乱引起的心功能不全,是引起糖尿病患者死亡的主要原因之一^[14]。长期高血糖状态与持续胰岛素抵抗会促进心肌炎症的发生,进而导致心肌凋亡、纤维化,造成无法逆转的心肌损伤^[15]。目前irisin被认为在心脏疾病中发挥着心脏保护作用。DUN等^[16]首次证实了irisin在心脏中的高表达。irisin能通过恢复缺血后心室功能和减少梗死面积来改善心脏缺血和再灌注损伤^[17]。此外,TAN等^[18]发现在LPS诱导的脓毒性心肌病实验模型

中,irisin能通过c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)-大肿瘤抑制激酶2(large tumor suppressor kinase 2, LATS2)信号通路调节动力蛋白相关蛋白1(dynamin-related protein 1, DRP1)相关的线粒体分裂,改善脓毒症心肌细胞损伤。不少临床研究也发现冠状动脉疾病患者的血清irisin水平降低,且irisin与CK-MB水平负相关^[19-20]。这些研究表明irisin在心肌损伤治疗上具有良好的临床前景。因此,本研究通过高脂饮食结合腹腔注射链脲佐菌素的方法建立DCM小鼠模型并予以irisin干预,通过HE、Masson染色发现,irisin能改善

DCM小鼠心肌病理损伤,减少心肌纤维化。已知心肌细胞受损时,CK、CK-MB会大量释放入血,所以常作为临床心肌损伤指标^[21]。本研究irisin能有效降低DCM小鼠体内CK、CK-MB水平,进一步说明irisin能减轻糖尿病诱导的心肌损伤,发挥心脏保护作用。

炎症是DCM发展的关键驱动因素。糖脂代谢紊乱可诱导心肌细胞中TNF- α 、IL-6、IL-1 β 在内的细胞因子上调,导致血管内皮和心肌炎症,加速心肌凋亡和纤维化进程^[22]。因此,抑制炎症因子释放可能是DCM的治疗方向。已有研究证明阻断TNF- α 表达可以减轻小鼠心肌局部炎症反应,改善心室重塑^[23];由TNF- α 、IL-6等促炎因子介导的心肌损伤也能被irisin的治疗减轻^[24]。所以本研究利用ELISA技术对小鼠心肌组织和H9c2细胞中相关炎症因子进行检测,发现DCM组小鼠心肌组织与HG/HL组细胞TNF- α 、IL-1 β 、IL-6水平明显上调,而经不同剂量irisin干预后,上述炎症因子表达明显被抑制,可见irisin能通过抑制炎症因子水平,减轻心肌炎症反应,进而延缓DCM进程。

NF- κ B是炎症信号转导过程中的主要转录因子,在免疫应答、氧化应激和细胞凋亡等方面均发挥重要作用^[25],已知抑制蛋白I κ B可通过与其DNA结合结构域结合导致NF- κ B的失活^[26]。研究发现在DCM模型中,活化的NF- κ B能促进TNF- α 、IL-1 β 、IL-6等炎症因子释放,并使抑制I κ B α 蛋白迅速降解,激活NF- κ B的级联反应,造成心肌炎症损害和心肌纤维化,最终导致心脏结构与功能障碍^[27],表明NF- κ B所介导的炎症反应与DCM发病密切相关。有研究报道irisin能通过抑制NF- κ B活化,从而降低心肌炎症及凋亡水平,改善阿霉素所诱导的心肌损害^[28]。此外,通过外源性补充irisin,可显著抑制LPS小鼠和A549细胞模型中IL-1 β 、IL-6和TNF- α 表达,其机制可能与NF- κ B信号通路有关^[5]。因此,本研究分别检测细胞核与细胞浆中NF- κ B相关蛋白水平发现:DCM组小鼠心肌组织与HG/HL组细胞核中NF- κ B p65升高,而细胞浆中减少,同时I κ B α 表达被抑制,经PDTC或不同剂量irisin干预后,上述结果部分逆转,表明irisin可能是通过抑制NF- κ B p65核转移,进而抑制炎症因子的表达,最终减轻心肌炎症反应。

综上所述,本研究通过体内和体外实验证实了irisin对DCM具有保护作用,其机制可能与调控NF- κ B信号通路进而减轻心肌炎症有关。本课题组将进一步深入研究irisin在DCM中的具体机制,期待能为DCM治疗提供新视角。

* * *

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] JIA G, WHALEY-CONNELL A, SOWERS J R. Diabetic cardiomyopathy: a hyperglycaemia- and insulin-resistance-induced heart disease. *Diabetologia*, 2018, 61(1): 21–28. doi: 10.1007/s00125-017-4390-4.
- [2] 陈月, 赵宇飞, 江洋, 等. 鸢尾素对小鼠脂肪的作用及对饮食诱导肥胖小鼠糖脂代谢的影响. *中华医学杂志*, 2021, 101(16): 1165–1170. doi: 10.3760/cma.j.cn112137-20200902-02534.
- [3] FAN G H, ZHU T Y, HUANG J. FNDC5 promotes paclitaxel sensitivity of non-small cell lung cancers via inhibiting MDR1. *Cell Signal*, 2020, 72: 109665. doi: 10.1016/j.cellsig.2020.109665.
- [4] PAN J A, ZHANG H, YU Q, et al. Association of circulating irisin levels and the characteristics and prognosis of coronary artery disease. *Am J Med Sci*, 2021, 362(1): 63–71. doi: 10.1016/j.amjms.2021.02.020.
- [5] SHAO L, MENG D, YANG F, et al. Irisin-mediated protective effect on LPS-induced acute lung injury via suppressing inflammation and apoptosis of alveolar epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 487(2): 194–200. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.04.020.
- [6] LING L, CHEN D, TONG Y, et al. Fibronectin type III domain containing 5 attenuates NLRP3 inflammasome activation and phenotypic transformation of adventitial fibroblasts in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens*, 2018, 36(5): 1104–1114. doi: 10.1097/HJH.0000000000001654.
- [7] LI X, JAMAL M, GUO P, et al. Irisin alleviates pulmonary epithelial barrier dysfunction in sepsis-induced acute lung injury via activation of AMPK/SIRT1 pathways. *Biomed Pharmacother*, 2019, 118: 109363. doi: 10.1016/j.biopha.2019.109363.
- [8] DENG J, ZHANG N, CHEN F, et al. Irisin ameliorates high glucose-induced cardiomyocytes injury via AMPK/mTOR signal pathway. *Cell Biol Int*, 2020, 44(11): 2315–2325. doi: 10.1002/cbin.11441.
- [9] 王金鑫, 段鹏, 朱庆磊. 一种建立小鼠2型糖尿病心脏病模型的方法. *中国病理生理杂志*, 2018, 34(4): 764–768. doi: 10.3969/j.issn.1000-4718.2018.04.030.
- [10] DUAN H, MA B, MA X, et al. Anti-diabetic activity of recombinant irisin in STZ-induced insulin-deficient diabetic mice. *Int J Biol Macromol*, 2016, 84: 457–463. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2015.12.049.
- [11] 王新洲, 高水波, 代丽萍, 等. 益气活血方对内毒素诱导小鼠炎症及内皮损伤的影响. *中国中西医结合杂志*, 2020, 40(7): 823–828. doi: 10.7661/j.cjim.20200410.226.
- [12] SONG R, ZHAO X, CAO R, et al. Irisin improves insulin resistance by inhibiting autophagy through the PI3K/Akt pathway in H9c2 cells. *Gene*, 2021, 769: 145209. doi: 10.1016/j.gene.2020.145209.
- [13] 陈美姬, 梁伟杰, 李健豪, 等. 尼可地尔对抗高糖引起的H9c2心肌细胞损伤和炎症反应. *中国药理学通报*, 2016, 32(12): 1657–1665. doi: 10.3969/j.issn.1001-1978.2016.12.006.
- [14] PAOLILLO S, MARSICO F, PRASTARO M, et al. Diabetic cardiomyopathy: definition, diagnosis, and therapeutic implications. *Heart Fail Clin*, 2019, 15(3): 341–347. doi: 10.1016/j.hfc.2019.02.003.
- [15] 佟红娜, 张晨阳, 韩美欣, 等. 糖尿病心肌病的发病机制及药物干预研究进展. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(2): 257–265. doi: 10.13422/j.

- cnki.syfx.20220101.
- [16] DUN S L, LYU R M, CHEN Y H, *et al.* Irisin-immunoreactivity in neural and non-neural cells of the rodent. *Neuroscience*, 2013, 240: 155–162. doi: [10.1016/j.neuroscience.2013.02.050](https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.02.050).
- [17] WANG H, ZHAO Y T, ZHANG S, *et al.* Irisin plays a pivotal role to protect the heart against ischemia and reperfusion injury. *J Cell Physiol*, 2017, 232(12): 3775–3785. doi: [10.1002/jcp.25857](https://doi.org/10.1002/jcp.25857).
- [18] TAN Y, OUYANG H, XIAO X, *et al.* Irisin ameliorates septic cardiomyopathy via inhibiting DRP1-related mitochondrial fission and normalizing the JNK-LATS2 signaling pathway. *Cell Stress Chaperones*, 2019, 24(3): 595–608. doi: [10.1007/s12192-019-00992-2](https://doi.org/10.1007/s12192-019-00992-2).
- [19] ANASTASILAKIS A D, KOULAXIS D, KEFALA N, *et al.* Circulating irisin levels are lower in patients with either stable coronary artery disease (CAD) or myocardial infarction (MI) versus healthy controls, whereas follistatin and activin A levels are higher and can discriminate MI from CAD with similar to CK-MB accuracy. *Metabolism*, 2017, 73: 1–8. doi: [10.1016/j.metabol.2017.05.002](https://doi.org/10.1016/j.metabol.2017.05.002).
- [20] BASHAR S M, SAMIR EL-SHERBEINY S M, BORAIE M Z. Correlation between the blood level of irisin and the severity of acute myocardial infarction in exercise-trained rats. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, 2018, 30(1): 59–71. doi: [10.1515/jbcp-2018-0090](https://doi.org/10.1515/jbcp-2018-0090).
- [21] 周遊, 马长胜. 血清cTnI、CK-MB及超声心动图检测对老年急性心肌梗死患者诊断的临床意义. *中国老年学杂志*, 2019, 39(3): 531–533.
- [22] JIA G, HILL M A, SOWERS J R. Diabetic cardiomyopathy: an update of mechanisms contributing to this clinical entity. *Circ Res*, 2018, 122(4): 624–638. doi: [10.1161/CIRCRESAHA.117.311586](https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.311586).
- [23] MANILALL A, MOKOTEDI L, GUNTER S, *et al.* Inflammation-induced left ventricular fibrosis is partially mediated by tumor necrosis factor- α . *Physiol Rep*, 2021, 9(21): e15062. doi: [10.14814/phy2.15062](https://doi.org/10.14814/phy2.15062).
- [24] LI Q, ZHANG M, ZHAO Y, *et al.* Irisin protects against LPS-stressed cardiac damage through inhibiting inflammation, apoptosis, and pyroptosis. *Shock*, 2021, 56(6): 1009–1018. doi: [10.1097/SHK.0000000000001775](https://doi.org/10.1097/SHK.0000000000001775).
- [25] BARNABEI L, LAPLANTINE E, MBONGO W, *et al.* NF- κ B: at the borders of autoimmunity and inflammation. *Front Immunol*, 2021, 12: 716469. doi: [10.3389/fimmu.2021.716469](https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.716469).
- [26] MULERO M C, HUXFORD T, GHOSH G. NF- κ B, I κ B, and IKK: integral components of immune system signaling. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1172: 207–226. doi: [10.1007/978-981-13-9367-9_10](https://doi.org/10.1007/978-981-13-9367-9_10).
- [27] FRATI G, SCHIRONE L, CHIMENTI I, *et al.* An overview of the inflammatory signalling mechanisms in the myocardium underlying the development of diabetic cardiomyopathy. *Cardiovasc Res*, 2017, 113(4): 378–388. doi: [10.1093/cvr/cvx011](https://doi.org/10.1093/cvr/cvx011).
- [28] 王芳娟, 龙雪蛟, 张梦洁. 鸢尾素有效降低阿霉素诱导心肌损伤大鼠炎症反应和心肌细胞凋亡. *免疫学杂志*, 2021, 37(10): 837–844.

(2022-04-30收稿, 2023-04-11修回)

编辑 余琳

