

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2025.01.005

杨玉莹, 刘京, 刘海峰, 等. 室旁核 lncRNA HFAR 介导 SK2 在慢性心力衰竭中的调控机制探究 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2025, 47(1): 62-72.

室旁核 lncRNA HFAR 介导 SK2 在慢性心力衰竭中的调控机制探究

杨玉莹¹, 刘京¹, 刘海峰², 孙巍²,
赵静岩², 张敏¹, 王仁俊¹, 杨一¹

1. 吉林师范大学 生命科学学院, 吉林 四平 136000; 2. 四平市中心人民医院, 吉林 四平 136000

摘要: 交感神经系统活动过度增强是慢性心力衰竭(chronic heart failure, CHF)的重要病理特征之一, 是加速 CHF 病情恶化的主要因素。为阐明室旁核(paraventricular nucleus, PVN)中的长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)心力衰竭相关调节剂(Heart failure associated regulator, HFAR), 调控 2 型小电导钙激活钾通道蛋白(small-conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channel 2, SK2)参与 CHF 发生发展的内在机制。采用结扎大鼠冠状动脉左前降支建立 CHF 模型, 通过 qRT-PCR 方法在 CHF 大鼠下丘脑 PVN 组织和血管紧张素 II(angiotensin II, ANGII)孵育的原代培养新生乳鼠下丘脑神经元细胞中, 筛选出表达下调显著的 lncRNA HFAR($p < 0.001$); 进一步利用心脏彩超检测、交感神经放电记录方法、免疫荧光和 Western blot 技术, 发现过表达 PVN 内 lncRNA HFAR 可显著改善 CHF 大鼠心功能、抑制交感神经兴奋亢进和显著上调 SK2 的表达($p < 0.05$)。结果表明: PVN 中下调显著的 lncRNA HFAR 通过靶向 SK2 参与 CHF 大鼠交感神经兴奋的调节, 这将为 CHF 治疗提供一种新策略。

关键词: 室旁核; 心力衰竭相关调节剂; 2 型小电导钙激活钾通道; 交感神经活动; 慢性心力衰竭

中图分类号: R331.3⁺6; R363.2⁺1

文献标志码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



文章编号: 1673-9868(2025)01-0062-11

Exploration of the Regulatory Mechanism of Paraventricular Nucleus lncRNA HFAR Mediating SK2 in Chronic Heart Failure

收稿日期: 2024-08-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(31871150); 吉林省科技发展计划项目(YDZJ202201ZYTS457, YDZJ202201ZYTS433, 20220101322JC)。

作者简介: 杨玉莹, 硕士研究生, 主要从事心血管疾病中枢神经调控机制研究。

通信作者: 杨一, 博士, 实验师。

YANG Yuying¹, LIU Jing¹, LIU Haifeng²,
SUN Wei², ZHAO Jingyan², ZHANG Min¹,
WANG Renjun¹, YANG Yi¹

1. College of Life Sciences, Jilin Normal University, Siping Jilin 136000, China;

2. Siping Central People's Hospital, Siping Jilin 136000, China

Abstract: Sympathetic nerve overactivity is one of the important pathological characters in chronic heart failure (CHF), and is the key factor accelerating the deterioration of CHF. The aim of this study was to elucidate the intrinsic mechanism of long chain non-coding RNA (lncRNA) heart failure-related regulator in paraventricular nuclei (PVN) regulate type 2 small conductance calcium-activated potassium channel (SK2) protein involved in the occurrence and development of CHF. The CHF rat model was established by ligation of the left anterior descending branch of the coronary artery. Down-regulated lncRNA HFAR was screened from the hypothalamic PVN tissue of CHF rats and the hypothalamic neurons incubated with angiotensin II (ANGII) by qRT-PCR method ($p < 0.001$). Furthermore, investigation with cardiac ultrasound detection, sympathetic nerve discharge recording methods, immunofluorescence and western blot technology indicated that overexpression of lncRNA HFAR in PVN can significantly improve the cardiac function, inhibit sympathetic nerve overactivity and upregulate SK2 expression in rats with CHF ($p < 0.05$). The results show that down-regulated lncRNA HFAR in PVN was involved in the regulation of sympathetic nerve overactivity in CHF rats by targeting SK2, which provides a new strategy for the treatment of CHF.

Key words: paraventricular nucleus; heart failure associated regulator; type 2 small conductance calcium activates potassium channel; sympathetic nerve activity; chronic heart failure

慢性心力衰竭(chronic heart failure, CHF)是一种临床综合征疾病,是世界范围内心血管病死亡的主要原因之一^[1-2]。尽管在过去的几十年里,药物和非药物治疗取得了重大进展,但 CHF 的高死亡率和再住院率仍居高不下^[2-4]。CHF 潜在的严重并发症和患病率,在全球都造成了沉重的经济负担^[5-6]。因此,寻找 CHF 药物治疗新靶点迫在眉睫。

交感神经兴奋性增强是 CHF 等一系列疾病的主要病理特征。目前,CHF 交感兴奋性亢进发病机制的研究进展主要包括外周和中枢两个方面。然而,外周采用肾交感切除术治疗 CHF 的长期有效性以及对心血管终点事件的影响还需大规模、多中心临床试验证实,仍处于临床前和探索阶段^[7]。随着前期研究不断深入,CHF 时交感神经激活中枢机制的特征引起学者们的广泛关注。下丘脑室旁核(paraventricular nucleus, PVN)作为重要的心血管交感神经紧张性活动整合中枢^[8-9],在交感神经活动和多种神经体液调节过程中发挥关键作用。PVN 内促炎性细胞因子^[10]和微小核糖核酸 miR-133a^[11]等内源性生物活性物质调节紊乱导致交感神经兴奋亢进,进而促进 CHF 发生发展。长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是一类长度大于 200 个核苷酸的转录本^[12],参与染色质修饰^[13]和调控蛋白质合成^[14]等生物学过程。lncRNA 不仅在胚胎发育^[15]和神经元分化^[16]等生理过程中发挥重要作用,而且与心肌肥厚^[17]和帕金森病^[18]等病理过程密切相关。然而,迄今为止中枢神经系统 PVN 内 lncRNA 是否参与 CHF 病理过程仍未见相关报道。有研究显示, PVN 内调控 2 型小电导钙激活钾通道蛋白(small-conductance

Ca²⁺-activated K⁺ channel 2, SK2)表达下调与 CHF 交感兴奋亢进密切相关^[19], 但 SK 通道下调的确切机制仍不明确。

本研究预实验结果显示, CHF 大鼠 PVN 组织和血管紧张素 II(angiotension II, ANGI)孵育的原代培养下丘脑神经元内长链非编码 RNA LOC116886540 表达显著下调, 并将其命名为心力衰竭相关调节剂(heart failure associated regulator, HFAR), lncRNA HFAR 由 1 973 个碱基构成, 其编码基因位于 17 号常染色体 NC 046170.1(28977446~28979418)上, 基因 ID 116886540, 转录本为 XR_004386110.1。据此, 提出假设: CHF 状态下 PVN 中过表达 lncRNA HFAR 可以使 SK2 表达上调, 抑制交感神经兴奋亢进, 最终改善 CHF 症状。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

荧光二抗(购自美国 LI-COR 公司); 一抗(分别购于 Sigma-Aldrich ©、Aomone lab 和 Abcam 公司); 小动物超声系统(Fugifilm); PowerLab 数据采集分析系(ADInstruments)等。

1.2 方法

1.2.1 实验动物

6~8 周 SD 雄性大鼠, 体质量为 200~350 g, 由北京维通利华实验动物技术有限公司购入, 合格证号: SCXK(京)-2021-0011。

1.2.2 CHF 大鼠模型

实验采用结扎冠状动脉左前降支法构建心衰大鼠模型, 将大鼠随机分为 Sham 组和 CHF 组。① 构建 CHF 组大鼠模型, 腹腔注射复合麻醉剂, 仰卧位固定大鼠, 手术开胸暴露心脏, 结扎冠状动脉左前降支, 观察结扎下方左心室壁颜色变白, 心电图有明显的缺血表现时, 断开呼吸机, 待大鼠恢复自主呼吸后, 轻轻拔掉气管插管, 并立即缝合气管和颈部。② Sham 组冠状动脉左前降支仅穿线不结扎, 其他操作与 CHF 组相同。术后大鼠每天皮下注射 0.2 mg/kg 美洛昔康和肌肉注射 20 万 U 青霉素, 持续 3 d, 进行抗感染治疗。4 周后鉴定心衰模型是否成功。

1.2.3 心肌梗死面积检测

大鼠术后 4 周, 待腹主动脉取血完成后, 迅速摘取大鼠心脏, 自结扎线以下将其切成 5 块厚度约 1 mm 的均匀切片, 迅速置于 1% 的 TTC 溶液中染色约 15 min 后观察拍照。红色区域为正常的心肌组织, 梗死区域呈现白色, 以梗死区域面积/心脏面积的比值代表梗死范围。

1.2.4 超声心动图评估心脏功能

大鼠术后 4 周, 利用装有异氟烷的气麻机持续麻醉大鼠后, 仰卧位固定在大鼠鼠板上, 将胸部左侧胸前区进行广泛备皮处理。采用 Vevo 3100 超声仪对大鼠进行胸部超声心动图检查, 配有 MX250 探头, M 型记录, 超声心动图系统评估左心室功能。超声心动图参数包括左心室舒张末期期内径(left ventricular internal diameter diastolic, LVIDd)等。

1.2.5 血流动力学指标和解剖学检测

腹腔注射混合麻醉剂, 通过股动脉插管测量平均动脉压(mean arterial pressure, MAP)和心率(heart rate, HR)。气管插管后, 静脉慢性输入加拉典铵 25 mg/(kg·h)麻痹大鼠呼吸肌, 并用室内高氧空气进行人工通气。分离颈部组织, 暴露出右侧颈总动脉, 经颈动脉插管至左心室, 术后稳定 15 min 后, 测定其左心室舒张末期压力(left ventricular end-diastolic pressure, LVEDP), 左心室最大收缩速率(dp/dt Max)和左心室最大舒张速率(dp/dt Min)。待血流动力学指标检测完毕, 用过氯化钾安乐死大鼠, 然后剪开大鼠

胸腔, 取出心脏和肺脏称质量。

1.2.6 PVN 微量注射

麻醉大鼠, 将其固定在脑立体定位仪上, 调整头骨水平。通过颅骨钻打孔暴露硬脑膜, 根据立体定位坐标将金属套管尖端下降至 PVN 中, 利用微量注射器注射病毒。对 4 周造模成功后的大鼠进行人工脑脊液组(NULL)、HFAR(重组腺相关病毒血清型 2/9-HFAR 过表达组)和/或 NC HFAR(重组腺相关病毒血清型 2/9-HFAR 过表达阴性对照组)病毒微量注射, 每次注射完毕留针 10 min。注射结束后缝合皮肤, 术后 3 d 连续每天皮下注射 0.2 mg/kg 美洛昔康和肌肉注射 20 万 U 青霉素, 避免感染发炎。第 5 周进行 HFAR ASO(重组腺相关病毒血清型 2/9-HFAR 敲减组)和/或 NC HFAR ASO(重组腺相关病毒血清型 2/9-HFAR 敲减阴性对照组)病毒微量注射, 上述全部病毒载体微量注射均采用 PVN 双侧注射。单侧注射体积为 50 nL, 病毒滴度为 1×10^{15} v. g. /L, 于 9 周后记录大鼠心功能、交感驱动、血流动力学指标并在心脏采血。上述实验结束时, 注射戊巴比妥钠安乐死, 将大鼠灌流取脑, 免疫荧光检测 PVN 内 SK2 蛋白表达量, 通过激光聚焦显微镜扫描鉴定显微注射位点。

1.2.7 肾交感神经活动记录

靠近脊椎左侧开口, 打开腹腔, 从周围组织中分离出左肾交感神经并固定在银丝电极上, 滴加 37 °C 石蜡油于神经上起绝缘和湿润保护作用。经四通道交流/直流差分放大器放大 1 000 倍后, 记录肾交感神经活动(renal sympathetic nerve activity, RSNA), 用 PowerLab 数据分析处理系统进行积分处理, 同步实时记录原始 RSNA 数值和积分 RSNA 数值。为记录噪音水平值, 在实验结束时注射氯化钾, 排除肾交感神经传出活动后记录的值即为噪音水平。RSNA 积分值与噪音积分值的差值即为实际肾交感神经传出活动的积分值。

1.2.8 血浆 NE 水平检测

大鼠在麻醉状态下, 通过心脏穿刺收集大鼠血液样本。血浆去甲肾上腺素(Norepinephrine, NE)水平用 ELISA 试剂盒按照厂家说明书进行检测, 结果由酶标仪读出。

1.2.9 PVN-RVLM 神经元的逆行标记

将大鼠用异氟烷麻醉后, 固定在脑立体定位仪上, 用颅骨钻打孔暴露小脑。将玻璃微电极尖端下降至延髓头端腹外侧(rostral ventrolateral medulla, RVLM)区域, 双侧 RVLM 各显微注射 50 nL 霍乱毒素 B 亚基(CTB)。每次进样结束后, 留针 20 min。连续 3 d 皮下注射美洛昔康和肌肉注射青霉素, 以镇痛和防止感染。

1.2.10 免疫荧光检测

注射重组腺相关病毒术后 4 周, 随机选取 6 只大鼠进行研究。先将鼠脑切片用 PBS 洗涤 3 次, 每次 10 min, 再把切片放在 37 °C 培养箱中封闭 3 h 后, 重复上述洗涤方法, 随后加入一抗, 放在冰箱 4 °C 孵育 48 h。最后, 用 PBS 冲洗并在避光条件下加入荧光标记的二抗, 室温孵育 1 h, 再用 PBS 洗净后进行贴片处理, 随后采用激光共聚焦显微镜进行扫描, 统计 SK2 表达量。

1.2.11 蛋白印迹分析

冰浴状态下, 切取 2 只大鼠 PVN 组织混为一个样本。将冷冻的脑组织按照 1:10 体积放置在含蛋白酶抑制剂的裂解缓冲液中, 匀浆 3 min, 再将其放在高速冷冻离心机中以 4 °C、12 000 r/min 离心 5 min。收集上清液, 用 Bio-Rad DC 蛋白测定试剂盒测定蛋白浓度。等量蛋白质样品利用 Buffer 煮沸后, 采用 SDS-PAGE(7.5%)分离, 将蛋白质从凝胶转移到 PVDF 膜上, 并用 5%脱脂奶粉室温封闭 1 h, 洗涤 3 次后用兔 Anti-SK2 Antibody 和小鼠抗 GAPDH 在 4 °C 孵育 24 h, 24 h 后再洗涤 3 次。用山羊抗兔 680RD 和山羊抗小鼠 800CW 荧光二抗于暗室中室温下孵育 1 h, 洗涤 3 次后用双色红外激光成像系统

Odyssey CLx 扫膜检测。

1.2.12 新生乳鼠下丘脑原代培养

无菌操作,将恒温 37 °C、5%CO₂-95%空气培养箱中分离出的新生大鼠下丘脑神经细胞,用 0.25%胰蛋白酶消化。离心后,将消化后的细胞悬浮,然后在含有 10%胎牛血清,100 U/mL 青霉素和 100 μg/mL 链霉素的 DMEM 培养基中培养,取对数生长期的细胞用于后续 qRT-PCR 检测。

1.2.13 实时荧光定量 PCR

用 Trizol 法提取下丘脑组织总 RNA,通过紫外分光光度计测定浓度,在 260 nm 处和 280 nm 处测定吸光度值,并计算浓度和纯度。取总 RNA 0.5 μg 置于逆转录仪中进行逆转录,再以 cDNA 为模板,按合成试剂盒说明书进行扩增。以 GAPDH 作为内参,利用 2^{-ΔΔCt} 方法计算表达量相对水平。

1.2.14 统计与分析

数据使用 10.1.2 版 GraphPad Prism 软件进行评估,并以平均值±标准误(SEM)表示。采用 Shapiro-Wilk 方法评估数据的正态性,数据符合正态分布。采用双尾非配对 *t*-检验评估两组之间的显著性差异,并利用单因素方差分析(One-way ANOVA)和 Bonferroni 检验进行多组间比较,*表示 $p < 0.05$ 水平差异具有统计学意义,**表示 $p < 0.01$ 水平差异具有统计学意义,***表示 $p < 0.001$ 水平差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 解剖学、血流动力学、心功能和血液生化指标检测

与 Sham 组相比,CHF 组心肌梗死面积均显著升高($p < 0.01$),左心室射血分数(ejection fraction, EF)和短轴缩短率(fractional shortening, FS)均显著下降($p < 0.01$),且 $EF \leq 45\%$ (表 1)。结果提示:慢性心肌缺血诱导大鼠心力衰竭模型制备成功。

表 1 解剖学和心功能指标检测

变量	Sham($n=9$)/%	CHF($n=9$)/%	<i>t</i>	<i>p</i>
左室射血分数	78.7±3.2	39.1±5.5**	18.68	<0.01
短轴缩短率	41.9±5.6	17.4±1.4**	12.80	<0.01
心肌梗死面积	4.3±2.1	48.8±0.8**	58.25	<0.01

2.2 Sham 组与 CHF 组 PVN 内差异 lncRNA 的筛选及鉴定

应用 qRT-PCR 方法进行验证,与 Sham 组相比,CHF 组下丘脑 PVN 内 3 个表达上调显著的 lncRNA 分别为 NONRATT001877.2、NONRATT005099.2 和 NONRATT003170.2($p < 0.05$)(图 1a); 3 个表达下调显著的 lncRNA 分别为 LOC116886540($p < 0.001$)、NONRATT000033.2($p < 0.05$)和 NONRATT000134.2($p < 0.05$)(图 1b)。与正常神经细胞相比,lncRNA HFAR 在 ANGII 孵育的原代培养乳鼠下丘脑神经细胞中表达显著降低($p < 0.001$)(图 1c)。结果提示:PVN 内下调的 lncRNA HFAR 可能与 CHF 大鼠交感神经兴奋亢进有关。

2.3 PVN 内过表达 lncRNA HFAR 对 CHF 大鼠心功能指标的影响

与假手术组相比,CHF 组大鼠心脏 EF、FS、左心室最大收缩速率和左心室最大舒张速率显著下降,左心室收缩末期内径(left ventricular internal diameter systolic, LVIDs)和 LVIDd 明显增加($p < 0.05$)。PVN 内过表达 lncRNA HFAR 可明显逆转 CHF 大鼠 EF 和 FS 下降,LVEDP、LVIDs 和 LVIDd 的增加($p < 0.05$)(图 2a-h)。结果提示:PVN 内过表达 lncRNA HFAR 可明显改善 CHF 大鼠心功能。

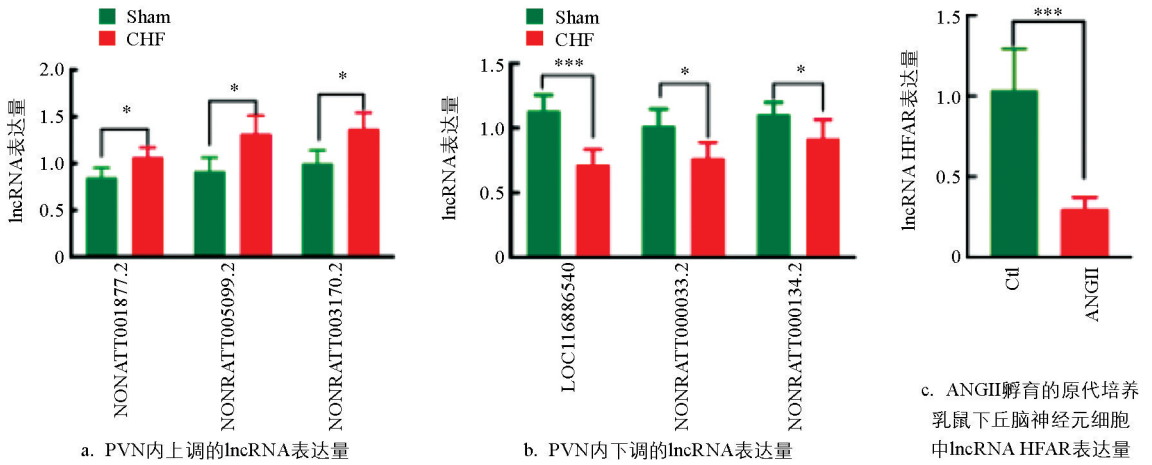


图 1 CHF 组 PVN 组织及原代培养乳鼠下丘脑神经元细胞内 lncRNA HFAR 的表达量

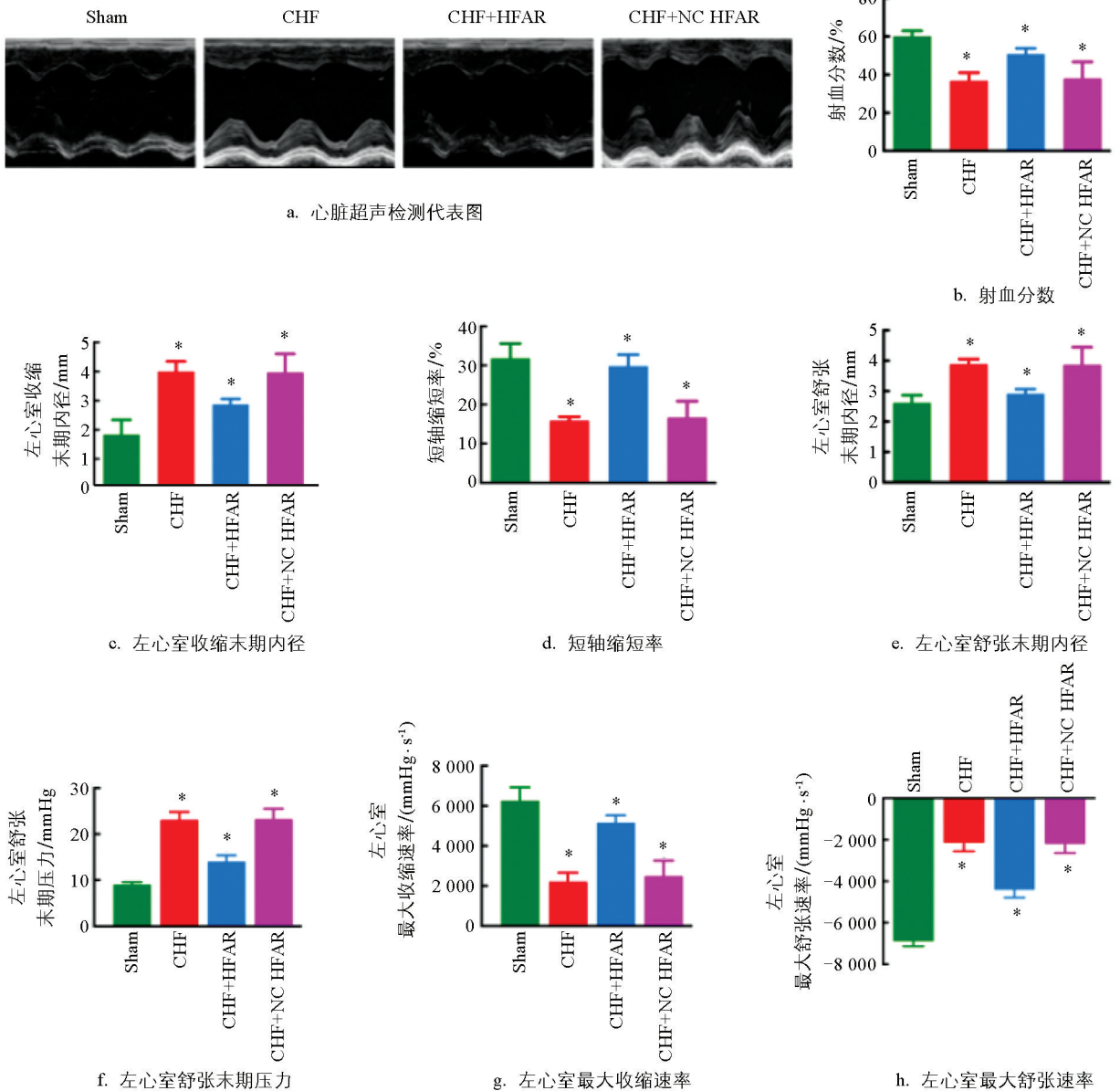
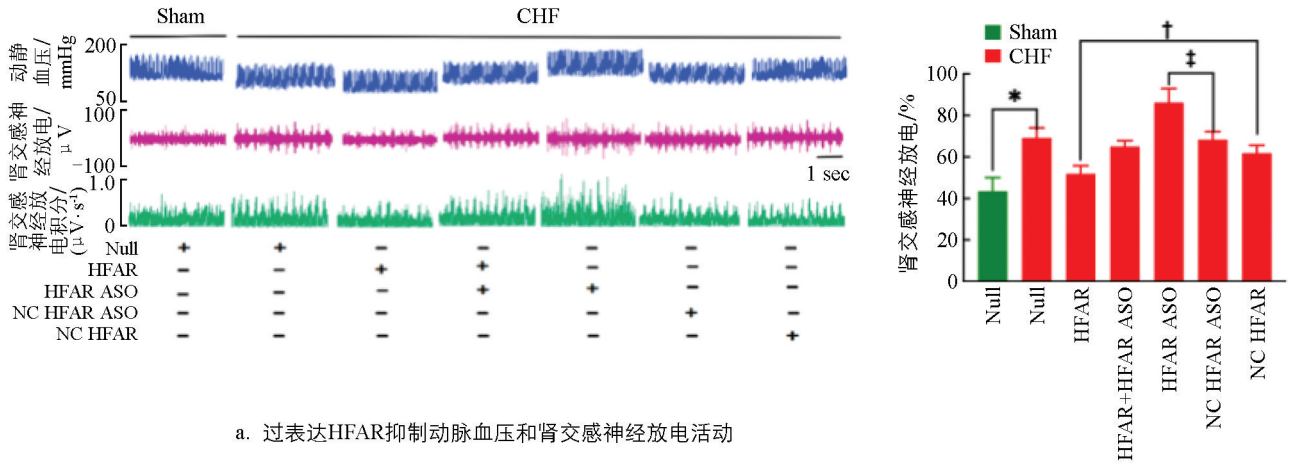


图 2 PVN 内过表达 lncRNA HFAR 对 CHF 大鼠心功能的影响

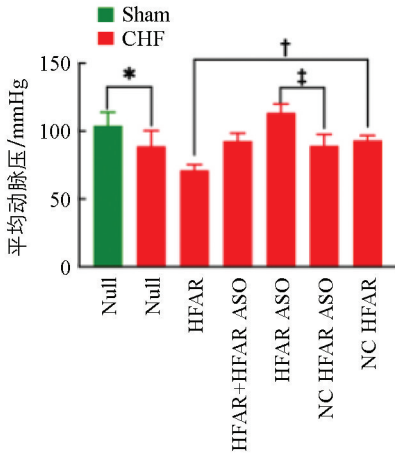
2.4 PVN 内过表达 lncRNA HFAR 对 CHF 组大鼠交感神经驱动指标的影响

与 Sham 组相比, CHF 组大鼠的交感神经驱动指标 RSNA、HR 和 NE 水平显著升高, MAP 显著降低 ($p < 0.05$)。与 CHF+NC HFAR 组相比, CHF+HFAR 组大鼠 RSNA、HR 和 NE 水平显著升高, MAP 显著降低 ($p < 0.05$); 与 CHF+NC HFAR ASO 组相比, CHF+HFAR ASO 组大鼠 RSNA、HR、MAP 和 NE 水平显著升高。结果提示: PVN 内下调的 lncRNA HFAR 可增强 CHF 大鼠交感神经激活作用(图 3a-e)。

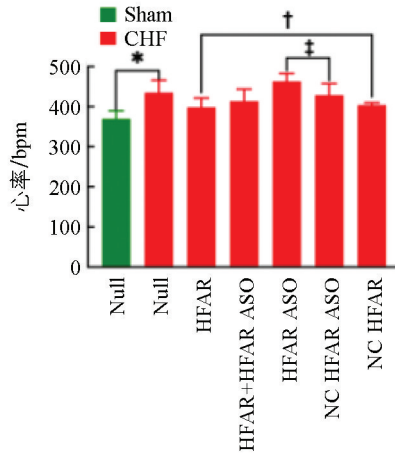


a. 过表达HFAR抑制动脉血压和肾交感神经放电活动

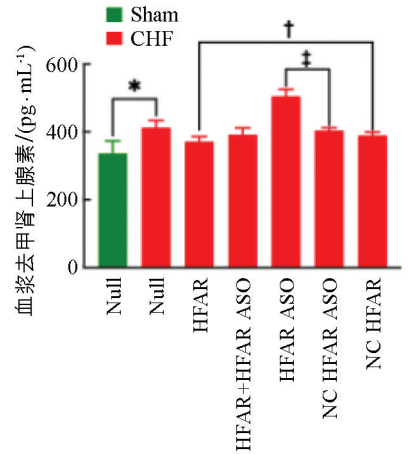
b. 肾交感神经放电



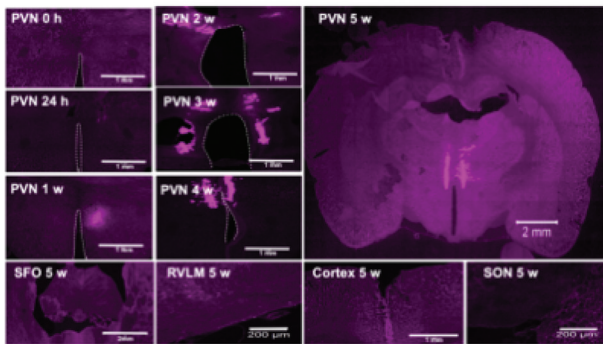
c. 平均动脉压



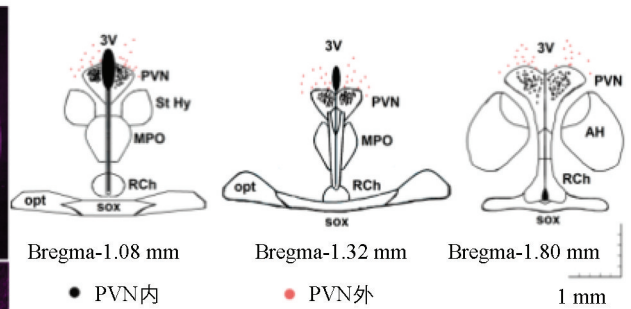
d. 心率



e. 血浆去甲肾上腺素



f. PVN转染效率鉴定



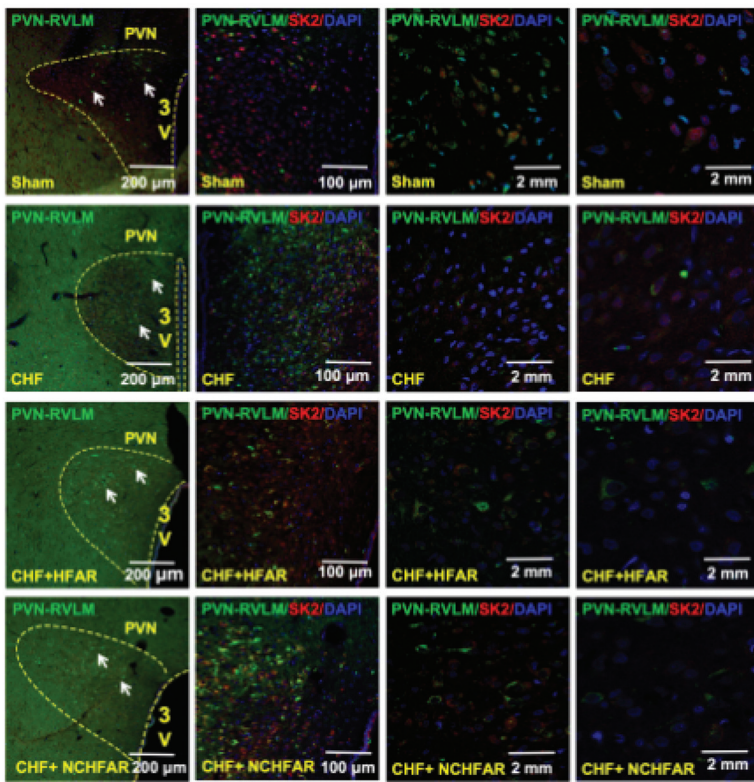
g. PVN注射位点鉴定

图 3 PVN 内过表达 lncRNA HFAR 可抑制 CHF 大鼠交感神经激活作用

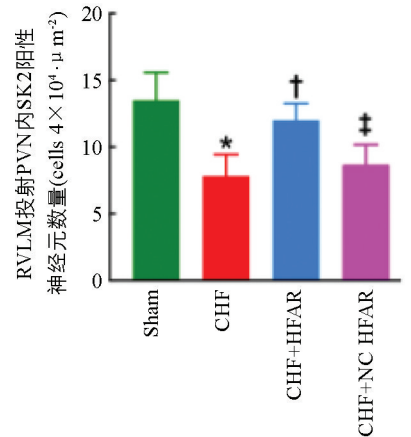
在大鼠 PVN 内注射 rAAV2/9-hSyn-mCherry-HFAR 病毒后, 24 h 内未见表达, 24 h 至 5 周时间内, 转染效率呈时间依赖性增加, 5 周时转染效率达顶峰。然而, 在穹窿下器官、RVLM、大脑皮层和视上核区域均未见红色荧光蛋白表达。结果提示: 5 周内 HFAR 病毒转染具有 PVN 核团特异性(图 3f)。参考大鼠脑立体定位图谱, 鉴定注射位点, 通过观察红色荧光蛋白表达区域是否落在 PVN 内, 判定病毒注射是否成功。在交感神经驱动指标记录实验中, 双侧核团注射 60 次, 其中 42 次注射在 PVN 内(图 3g)。

2.5 PVN 内过表达 lncRNA HFAR 对 CHF 大鼠 PVN 内 SK2 蛋白表达的影响

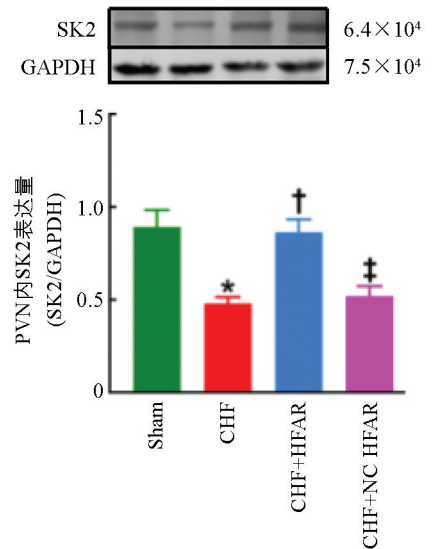
与假手术组相比, CHF 组大鼠 PVN 内交感节前神经元 SK2 蛋白表达量显著下调; 与 CHF + NC HFAR 组相比, PVN 内过表达 lncRNA HFAR 可明显上调 CHF 组 SK2 蛋白表达量(图 4a-c)。结果提示: PVN 内下调的 lncRNA HFAR 可导致交感节前神经元 SK2 蛋白表达量降低, 与 CHF 状态下交感神经兴奋性亢进有关。



a. 下丘脑 PVN 交感节前神经元 SK2 蛋白表达免疫荧光图



b. 交感节前神经元 SK2 阳性神经元数量



c. SK2 蛋白表达量

图 4 PVN 内过表达 lncRNA HFAR 可抑制下调的 CHF 大鼠 PVN 神经元 SK2 蛋白表达水平

3 讨论与结论

3.1 讨论

本研究应用 qRT-PCR 方法发现 CHF 大鼠 PVN 组织中 lncRNA HFAR 极显著下调, 过表达

lncRNA HFAR 显著改善 CHF 大鼠心脏功能和抑制交感神经兴奋性增加。周壮^[20]证实了在腰椎间盘突出症大鼠 PVN 内 lncRNA NORATTO00069.2、NONRATT005099.2、NONRATT000033.2 和 NONRATT000134.2 表达失衡,可能与神经病理性疼痛有关。Zhang 等^[21]研究发现在应激性高血压大鼠 RVLM 中 lncRNA IN-PP5F 显著下调,过表达 lncRNA INPP5F 显著改善了应激诱导的血压升高和交感神经兴奋性增加。以上结果提示:在中枢内 lncRNAs 表达失衡可以调节交感传出神经元活动,从而参与 CHF、高血压和疼痛的发生发展。

SK 通道至少包括 SK1、SK2 和 SK3 共 3 种亚型,其中 SK2 对 Apamin 亲和力最高,且神经系统中主要表达 SK2 和 SK3 两种亚型。本研究发现 CHF 大鼠 PVN 组织中 SK2 通道蛋白表达显著下调,可能与交感神经兴奋性增加有关,这与李晓燕等^[19]的研究结果一致。另有研究显示,CHF 大鼠视上核中 SK2 和 SK3 通道 mRNA 表达和功能显著降低,可能是导致大细胞神经元兴奋性增加的重要机制^[22]。Chen 等^[23]发现 ANGII 和高盐饮食诱导的高血压大鼠 PVN-RVLM 神经元中 SK 电流减少,导致中后超极化电位减弱和神经元兴奋性增加。Chapp 等^[24]研究表明,长期高盐摄入的大鼠 PVN-RVLM 交感节前神经元 SK 电流降低与 PVN 神经元兴奋性增加有关。Pachua 等^[25]发现自发性高血压大鼠 PVN-IML(intermediolateral cell column, IML)交感节前神经元中 SK 通道功能减弱导致 PVN 神经元兴奋性增加,与 PVN 内 SK3 通道 mRNA 和蛋白质表达量无关。Larson 等^[26]报道 PVN 内 SK 通道功能降低引起 ANG II-盐性高血压相关的交感神经兴奋,与 PVN 内 SK1、SK2 和 SK3 通道蛋白表达量无关。综上所述提示:在下丘脑 PVN 内 SK 通道的表达失衡或功能紊乱可以调节交感传出神经兴奋和 PVN 内神经元活动,从而参与 CHF 和高血压的发生发展。

本研究发现 lncRNA HFAR 可直接上调 SK2 蛋白表达抑制 CHF 大鼠交感神经兴奋亢进,其机制可能与 lncRNA 直接影响 SK 通道的膜运输过程有关。Ma 等^[27]报道 lncRNA 可通过突触素 2b 蛋白下调 α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异唑丙酸受体(AMPA)表达,从而增强突触可塑性和影响社会等级。结果提示:lncRNA 对膜通道蛋白表达量的影响与其参与调节配体门控通道的膜运输过程有关。另有研究发现,lncRNA DACH1 不仅在心力衰竭小鼠中通过泛素化修饰下调内质网钙 ATP 酶 2 蛋白表达损害心脏功能^[28],而且在糖尿病心肌病(DCM)直接与沉默信息调节因子相关酶 3(SIRT3)结合并促进其泛素化降解,进而促进小鼠心脏线粒体氧化损伤和细胞凋亡^[29]。Zhang 等^[30]报道,在心肌梗死小鼠中 lncRNA ZFAS1 可通过磷酸化作用直接下调内质网钙 ATP 酶 2 蛋白表达,从而使心脏收缩功能受损。综上所述,lncRNA 可通过影响离子通道的膜运输、泛素化和磷酸化修饰等过程调节蛋白质表达量,参与神经系统和心血管系统生理和病理过程。

3.2 结论

本研究首次发现 CHF 大鼠下丘脑 PVN 内 lncRNA HFAR 发生显著下调,并探索了 lncRNA HFAR 对 CHF 大鼠心脏功能、HR、MAP、RSNA、血浆 NE 和 PVN 内 SK2 通道表达的影响。研究显示,过表达 lncRNA HFAR 显著改善了 CHF 大鼠心脏功能、抑制交感驱动指标并上调 CHF 大鼠 PVN 内 SK2 蛋白表达。结果提示:PVN 中下调的 lncRNA HFAR 通过抑制 SK2 通道蛋白表达导致 CHF 状态下交感兴奋性亢进。

参考文献:

- [1] SWEDBERG K, CLELAND J, DARGIE H, et al. Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure: Executive Summary (Update 2005): The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure of the

- European Society of Cardiology [J]. *European Heart Journal*, 2005, 26(11): 1115-1140.
- [2] TSUTSUI H, TSUCHIHASHI-MAKAYA M, KINUGAWA S, et al. Clinical Characteristics and Outcome of Hospitalized Patients with Heart Failure in Japan [J]. *Circulation Journal*, 2006, 70(12): 1617-1623.
- [3] CHIONCEL O, MEBAZAA A, HARJOLA V P, et al. Clinical Phenotypes and Outcome of Patients Hospitalized for Acute Heart Failure; The ESC Heart Failure Long-Term Registry [J]. *European Journal of Heart Failure*, 2017, 19(10): 1242-1254.
- [4] IDE T, KAKU H, MATSUSHIMA S, et al. Clinical Characteristics and Outcomes of Hospitalized Patients with Heart Failure from the Large-Scale Japanese Registry of Acute Decompensated Heart Failure (JROADHF) [J]. *Circulation Journal*, 2021, 85(9): 1438-1450.
- [5] TUMANAN-MENDOZA B A, MENDOZA V L, BERMUDEZ-DELOS SANTOS A A A, et al. Economic Burden of Hospitalisation for Congestive Heart Failure among Adults in the Philippines [J]. *Heart Asia*, 2018, 10(2): e011039.
- [6] YOUNG T, HYLTON J, VOYVODIC L C, et al. The Association of Congestive Heart Failure on In-Hospital Lengths of Stay, Morbidity, and Financial Burden Following Primary Total Knee Arthroplasty [J]. *European Journal of Orthopaedic Surgery & Traumatology*, 2024, 34(1): 585-590.
- [7] 贾硕, 史冬梅, 张鲁辰. 经皮去肾神经术在非高血压疾病治疗中的进展 [J]. *心血管病学进展*, 2024, 45(3): 216-219.
- [8] FELDER R B, YU Y, ZHANG Z H, et al. Pharmacological Treatment for Heart Failure: A View from the Brain [J]. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 2009, 86(2): 216-220.
- [9] 马柳一, 尹玉洁, 李红蓉, 等. 慢性心力衰竭患者交感神经激活的中枢机制及治疗进展 [J]. *中国老年学杂志*, 2016, 36(12): 3068-3071.
- [10] KANG Y M, ZHANG Z H, XUE B J, et al. Inhibition of Brain Proinflammatory Cytokine Synthesis Reduces Hypothalamic Excitation in Rats with Ischemia-Induced Heart Failure [J]. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*, 2008, 295(1): 227-236.
- [11] SHARMA N M, NANDI S S, ZHENG H, et al. A Novel Role for miR-133a in Centrally Mediated Activation of the Renin-Angiotensin System in Congestive Heart Failure [J]. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*, 2017, 312(5): 968-979.
- [12] QUINN J J, CHANG H Y. Unique Features of Long Non-Coding RNA Biogenesis and Function [J]. *Nature Reviews Genetics*, 2016, 17(1): 47-62.
- [13] TSAI M C, MANOR O, WAN Y, et al. Long Noncoding RNA as Modular Scaffold of Histone Modification Complexes [J]. *Science*, 2010, 329(5992): 689-693.
- [14] LIU F, HU S L, ZHAO N, et al. LncRNA-5657 Silencing Alleviates Sepsis-Induced Lung Injury by Suppressing the Expression of Spinster Homology Protein 2 [J]. *International Immunopharmacology*, 2020, 88: 106875.
- [15] MONNIER P, MARTINET C, PONTIS J, et al. H19 lncRNA Controls Gene Expression of the Imprinted Gene Network by Recruiting MBD1 [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(51): 20693-20698.
- [16] NG S Y, BOGU G K, SOH B S, et al. The Long Noncoding RNA RMST Interacts with SOX2 to Regulate Neurogenesis [J]. *Molecular Cell*, 2013, 51(3): 349-359.
- [17] VIERECK J, KUMARSWAMY R, FOINQUINOS A, et al. Long Noncoding RNA Chast Promotes Cardiac Remodeling [J]. *Science Translational Medicine*, 2016, 8(326): 326ra22.
- [18] HUANG H, ZHENG S Y, LU M W. Downregulation of lncRNA MEG3 Is Involved in Parkinson's Disease [J]. *Metabolic Brain Disease*, 2021, 36(8): 2323-2328.
- [19] 李晓燕, 刘金玲, 桂乐, 等. 下丘脑室旁核小电导钙激活钾通道过表达降低慢性心衰大鼠肾交感神经兴奋性 [J]. *中国病理生理杂志*, 2014, 30(8): 1478-1482.

- [20] 周壮. LncRNAs 在腰椎间盘突出症模型大鼠室旁核内的差异性表达 [D]. 苏州: 苏州大学, 2019.
- [21] ZHANG S, CHEN G J, WANG X P, et al. LncRNA INPP5F Ameliorates Stress-Induced Hypertension via the miR-335/CTTN Axis in Rostral Ventrolateral Medulla [J]. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 2023, 29(7): 1830-1847.
- [22] FERREIRA-NETO H C, BIANCARDI V C, STERN J E. A Reduction in SK Channels Contributes to Increased Activity of Hypothalamic Magnocellular Neurons during Heart Failure [J]. *Journal of Physiology*, 2017, 595(20): 6429-6442.
- [23] CHEN Q H, ANDRADE M A, CALDERON A S, et al. Hypertension Induced by Angiotensin II and a High Salt Diet Involves Reduced SK Current and Increased Excitability of RVLN Projecting PVN Neurons [J]. *Journal of Neurophysiology*, 2010, 104(5): 2329-2337.
- [24] CHAPP A D, WANG R J, CHENG Z J, et al. Long-Term High Salt Intake Involves Reduced SK Currents and Increased Excitability of PVN Neurons with Projections to the Rostral Ventrolateral Medulla in Rats [J]. *Neural Plasticity*, 2017, 2017: 7282834.
- [25] PACHUAU J, LI D P, CHEN S R, et al. Protein Kinase CK2 Contributes to Diminished Small Conductance Ca^{2+} -Activated K^{+} Channel Activity of Hypothalamic Pre-Sympathetic Neurons in Hypertension [J]. *Journal of Neurochemistry*, 2014, 130(5): 657-667.
- [26] LARSON R A, GUI L, HUBER M J, et al. Sympathoexcitation in ANG II-Salt Hypertension Involves Reduced SK Channel Function in the Hypothalamic Paraventricular Nucleus [J]. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*, 2015, 308(12): 1547-1555.
- [27] MA M, XIONG W, HU F, et al. A Novel Pathway Regulates Social Hierarchy via lncRNA AtLAS and Postsynaptic Synapsin IIb [J]. *Cell Research*, 2020, 30(2): 105-118.
- [28] ZHANG Q, LI D Y, DONG X, et al. lncDACH1 Promotes Mitochondrial Oxidative Stress of Cardiomyocytes by Interacting with Sirtuin3 and Aggravates Diabetic Cardiomyopathy [J]. *Science China Life Sciences*, 2022, 65(6): 1198-1212.
- [29] CAI B Z, ZHANG Y, ZHAO Y, et al. Long Noncoding RNA-DACH1 (Dachshund Homolog 1) Regulates Cardiac Function by Inhibiting SERCA2a (Sarcoplasmic Reticulum Calcium ATPase 2a) [J]. *Hypertension*, 2019, 74(4): 833-842.
- [30] ZHANG Y, JIAO L, SUN L H, et al. LncRNA ZFAS1 as a SERCA2a Inhibitor to Cause Intracellular Ca^{2+} Overload and Contractile Dysfunction in a Mouse Model of Myocardial Infarction [J]. *Circulation Research*, 2018, 122(10): 1354-1368.

责任编辑 夏娟