

DOI: 10.20135/j.issn.1006-8147.2025.01.0030

论著

曲美他嗪对棕榈酸诱导的 H9C2 心肌细胞脂毒性凋亡的影响

王凯, 张子钊, 刘彤
(天津医科大学第二医院心脏内科, 天津 300211)

摘要 **目的:**建立棕榈酸(PA)诱导的H9C2细胞凋亡模型,验证曲美他嗪(TMZ)是否对H9C2细胞脂毒性凋亡产生保护作用及具体机制。**方法:**在体外培养的H9C2心肌细胞,当细胞密度为90%时分别给予不同时间(0、6、12、24 h)、不同浓度(0、50、100、150、200、300、350 $\mu\text{mol/L}$)的PA刺激($n=3$),建立脂毒性损伤模型,用CCK8检测细胞活性确定最佳刺激条件,蛋白印迹法证实细胞凋亡。实验共分6组,分别为对照组(CON)、PA(200 $\mu\text{mol/L}$)组、CON+TMZ3(10 $\mu\text{mol/L}$)组、PA(200 $\mu\text{mol/L}$)+TMZ1(0.1 $\mu\text{mol/L}$)组、PA(200 $\mu\text{mol/L}$)+TMZ2(1 $\mu\text{mol/L}$)组、PA(200 $\mu\text{mol/L}$)+TMZ3(10 $\mu\text{mol/L}$)组($n=3$),用CCK8检测细胞活性、蛋白印迹测定凋亡相关蛋白表达量。后续为观察细胞内脂质含量变化,实验分为4组,分别为对照组(CON)、PA(200 $\mu\text{mol/L}$)组、TMZ3(10 $\mu\text{mol/L}$)组、PA(200 $\mu\text{mol/L}$)+TMZ3组($n=3$),通过油红O染色镜下观察。**结果:**与CON组相比,200 $\mu\text{mol/L}$ PA组及12 h组细胞活力明显下降($t=15.8$ 、 20.82 ,均 $P<0.05$),使用CCK8检测并最终确定PA 200 $\mu\text{mol/L}$ 、刺激12 h的条件下,H9C2细胞脂毒性损伤较大、存活细胞最多。与CON组相比,200 $\mu\text{mol/L}$ PA组Bax蛋白表达明显升高($t=3.201$, $P<0.05$),150 $\mu\text{mol/L}$ PA组Bcl-2蛋白表达明显降低($t=2.479$, $P<0.05$),蛋白检测证实细胞凋亡。与PA刺激组相比,PA+TMZ1组、PA+TMZ2组、PA+TMZ3组的细胞活力升高($F=420.1$,均 $P<0.05$)、PA+TMZ2组、PA+TMZ3组凋亡相关蛋白Bcl-2表达升高($t=6.028$ 、 8.952 ,均 $P<0.05$)、Bax表达下降($t=3.392$ 、 4.275 ,均 $P<0.05$),随着TMZ浓度的增加,Bax表达降低、Bcl-2表达增加($F=3.763$ 、 7.548 ,均 $P<0.05$)。与CON组相比,PA组H9C2细胞内脂滴含量明显增多。与PA组相比,PA+TMZ3组H9C2细胞内脂滴含量明显减少。**结论:**棕榈酸刺激可诱导H9C2心肌细胞脂毒性凋亡,曲美他嗪可抑制棕榈酸诱导的H9C2细胞脂毒性凋亡。

关键词 棕榈酸; 凋亡; 曲美他嗪; Bax/Bcl-2

中图分类号 R541.9 文献标志码 A 文章编号 1006-8147(2025)01-0030-06

The effects of trimetazidine on palmitic acid-induced lipotoxic apoptosis in H9C2 cardiomyocytes

WANG Kai, ZHANG Zizhao, LIU Tong

(Department of Cardiology, The Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China)

Abstract **Objective:** To establish a palmitic acid(PA)-induced apoptosis model of H9C2 cells to verify whether trimetazidine (TMZ) had a protective effect on lipotoxic apoptosis in H9C2 cells and its specific mechanism. **Methods:** H9C2 cardiomyocytes cultured *in vitro* were stimulated with PA for different time(0, 6, 12, 24 h) and different concentrations(0, 50, 100, 150, 200, 300, 350 $\mu\text{mol/L}$) ($n=3$) when the cell density was 90% to establish a lipotoxic injury model. CCK8 was used to detect cell viability to determine the optimal stimulation conditions, and Western blotting was used to confirm cell apoptosis. There were 6 groups in the experiment, including control group (CON), PA (200 $\mu\text{mol/L}$), CON+TMZ3 (10 $\mu\text{mol/L}$), PA (200 $\mu\text{mol/L}$) + TMZ1 (0.1 $\mu\text{mol/L}$), PA (200 $\mu\text{mol/L}$) + TMZ2 (1 $\mu\text{mol/L}$), and PA (200 $\mu\text{mol/L}$) + TMZ3 (10 $\mu\text{mol/L}$) ($n=3$). CCK8 was used to detect cell viability and Western blotting was used to determine the expression of apoptosis-related proteins. To observe the changes in intracellular lipid content, the experiment was divided into 4 groups, including control group (CON), PA (200 $\mu\text{mol/L}$), TMZ3 (10 $\mu\text{mol/L}$), and PA (200 $\mu\text{mol/L}$) + TMZ3 ($n=3$), which were observed under the microscope by Oil Red O staining. **Results:** Compared with the CON group, the cell viability in the 200 $\mu\text{mol/L}$ PA group and the 12 h group was significantly decreased($t=15.8$, 20.82 ,both $P<0.05$). CCK8 was used to detect and finally determine that under the conditions of PA 200 $\mu\text{mol/L}$ and 12 h stimulation, H9C2 cells suffered greater lipotoxic damage and the most surviving cells. Compared with the CON group, the expression of Bax protein in the 200 $\mu\text{mol/L}$ PA group was significantly increased ($t=3.201$, $P<0.05$), and the expression of Bcl-2 protein in the 150 $\mu\text{mol/L}$ PA group was significantly decreased ($t=2.479$, $P<0.05$). Protein detection confirmed cell apoptosis. Compared with the PA stimulation group, the cell activity of the PA+TMZ1 group, PA+TMZ2 group, and PA+TMZ3 group increased ($F=420.1$, all $P<0.05$), the expression of apoptosis-related protein Bcl-2 increased ($t=6.028$, 8.952 , both $P<0.05$) and the expression of Bax decreased ($t=3.392$, 4.275 , all $P<0.05$) in the PA+TMZ2 group and PA+TMZ3 group. With the increase of TMZ concentration, the expression of Bax decreased significantly and the expression of Bcl-2 increased significantly

基金项目 天津市医学重点学科(专科)建设项目(TJYXZDX-029A)

作者简介 王凯(1996-),男,医师,硕士,研究方向:冠心病介入、心力衰竭;通信作者:刘彤,E-mail:liutongdoc@126.com。

($F=3.763, 7.548$, both $P<0.05$). Compared with the CON group, the intracellular lipid droplet content of H9C2 cells in the PA group increased significantly. Compared with the PA group, the intracellular lipid droplet content of H9C2 cells in the PA+TMZ group decreased significantly. **Conclusion:** Palmitic acid stimulation can induce lipotoxic apoptosis in H9C2 cardiomyocytes, and trimetazidine can inhibit palmitic acid-induced lipotoxic apoptosis in H9C2 cells.

Key words palmitic acid; apoptosis; trimetazidine; Bax/Bcl-2

在糖尿病心肌病患者中,心肌细胞主要代谢底物从葡萄糖转换为游离脂肪酸,后者在心脏组织中的氧化效率低于葡萄糖,导致心脏效率降低和进一步的代谢紊乱^[1]。当脂肪酸水平超过线粒体利用能力时,会导致脂质和有毒代谢物的积累,从而导致线粒体功能障碍和心脏脂毒性^[2]。棕榈酸(palmitic acid, PA)是人体内含量最丰富的不饱和脂肪酸,高浓度的PA可以诱导多种细胞凋亡,包括心肌细胞、乳腺癌细胞、前列腺癌细胞等^[3-7]。PA诱导心肌细胞凋亡的过程中涉及许多凋亡标志物的产生, BCL-2蛋白家族已被公认为凋亡细胞死亡的关键调节因子^[8-9]。

曲美他嗪(trimetazidine, TMZ)是一种抗心绞痛药物,通过调节细胞代谢发挥作用,而不增加心肌耗氧^[10]。TMZ可以部分抑制 β -氧化酶、长链3-酮脂酰辅酶A硫解酶(3-CAT)^[11]和肉碱-棕榈酰转移酶1(CPT1)^[12]活性,减少游离脂肪酸的 β 氧化,同时增加葡萄糖的利用,进而生成ATP^[13]。在缺血、缺氧条件下^[14], TMZ通过减少线粒体复合物I中电子传递链含量、氧消耗和活性氧簇(ROS)的生成^[15],维持线粒体稳态^[16]、线粒体膜电位稳定^[17]、线粒体膜通透性转换孔的开放^[18],进而发挥各种保护作用。既往实验证明,不同浓度的TMZ(0.1~100 $\mu\text{mol/L}$)对PA刺激下心肌细胞线粒体功能具有保护作用^[19]。基于TMZ的上述作用,本实验拟用PA诱导H9C2细胞凋亡,模拟糖尿病心肌病模型,观察TMZ对H9C2细胞脂毒性凋亡的影响。

1 材料与方法

1.1 试验设备与试剂

1.1.1 细胞系 大鼠H9C2心肌细胞系(广州赛库生物)。

1.1.2 主要材料与试剂 抗GAPDH抗体、抗 β -actin抗体(赛默飞公司),抗BAX抗体、抗BCL2抗体(博士德生物工程有限公司),抗Caspase3抗体(美国CST Cell Signaling Technology公司),彩虹预染蛋白Marker(10~250 kD,苏州优逸兰迪生物科技有限公司),彩虹245广谱蛋白Marker(11~245 kD)、CCK8试剂盒、高糖DMEM培养基(北京索莱宝公司),盐酸曲美他嗪粉剂(Med Chem Express)。

1.1.3 实验主要仪器与设备 单人双面超净台(苏净安泰公司)、电泳仪电源(美国PowerpacBasic公司)、LabServ标准型洁净工作台(美国赛默飞有限公司)、电泳槽(美国Bio-Rad公司)、低温高速离心机(德国Eppendorf公司)、恒温水浴锅(美国精骐公司)、恒温CO₂细胞培养箱(美国精骐公司)、可拍照倒置显微镜(麦克奥迪有限公司)、多功能酶标仪(美国伯腾仪器有限公司)、微量式可调移液器(赛默飞有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 H9C2心肌细胞种植在6 cm培养瓶中,培养于含10%胎牛血清和100 U/mL青霉素/链霉素的高糖DMEM中,静置于恒温37℃、5% CO₂的条件下24 h。显微镜下观察细胞充分贴壁生长融合至85%~90%时,用含0.25% EDTA胰酶使贴壁细胞悬浮,取对数生长期的细胞进行本次实验,每次操作前将培养皿、移液器、枪头、离心管等放置于超净台,使用紫外灯照射至少30 min,培养基、PA储存液、TMZ储存液、PBS、胰酶等液体试剂提前放置恒温水浴锅37℃预热至少15 min。

1.2.2 PA储存液的配制 将75℃恒温的3 mL PA皂化溶液迅速地与离心后的3 mL BSA溶液混合,得到6 mL 40 mmol/L PA+BSA溶液,即PA储存液,适当摇匀,为棕黄色澄清样液,无菌操作台细菌过滤器过滤2~3遍,4℃冰箱保存。

配制PA脂性培养基:从4℃冰箱取出的PA储存液,先放置于37℃恒温水浴锅中预热,至PA储存液内沉淀消失,溶液变至透明棕黄色,然后将PA储存液加入到DMEM高糖完全培养基中,分别稀释至浓度为50~350 $\mu\text{mol/L}$ 的PA培养基。

1.2.3 TMZ的配制 取10 mg TMZ粉剂,溶于2.947 6 mL PBS中,得到最终浓度10 mmol/L的无色透明TMZ溶液,再分别稀释至0.1、1、10 $\mu\text{mol/L}$ TMZ溶液,超净台细菌过滤器过滤,-20℃保存。

1.3 检测指标

1.3.1 CCK8细胞活性检测 当细胞密度到达实验要求后向每孔加入CCK-8溶液,将培养板在培养箱内孵育,观察培养基颜色变为黄色即可。用酶标仪测定在450 nm处的吸光度。

活性计算:细胞活性(%)=[A(刺激组)-B(空白组)]/[A(对照组)-A(空白组)] \times 100%;以细胞活性为纵坐标,以培养时间、浓度为横坐标,用 Graphpad prism 软件绘制柱状图。

1.3.2 油红 O 染色 (1)待细胞密度满足实验要求后,吸液枪吸取细胞培养基,用无菌冷 PBS 清洗 3 次,加 ORO Fixative 固定液固定 20~30 min。(2)弃去固定液,再次用冷 PBS 清洗 3 次。(3)加入 60%异丙醇浸洗 5 min。(4)弃去 60%异丙醇后加入新配制好的 ORO Stain,浸染 10~20 min。(5)弃去染色液,水洗 3 次,直到无多余染液。(6)加入 Mayer 苏木素染色液,复染核 1~2 min。弃去染液后水洗 2~5 次。(7)入 ORO Buffer 1 min,弃去。(8)加入蒸馏水覆盖细胞并在显微镜下观察。

1.3.3 免疫蛋白电泳 使用 Image J 系统进行条带灰度分析计算灰度值,以被测蛋白灰度值/内参蛋白灰度值的比值来代表被测蛋白表达水平。

1.4 分组

1.4.1 预实验组 CCK8 检测 PA 浓度梯度分为 8 组:0 μ mol/L 组(CON 组)、50 μ mol/L 组、100 μ mol/L 组、150 μ mol/L 组、200 μ mol/L 组、250 μ mol/L 组、300 μ mol/L 组、350 μ mol/L 组。CCK8 检测 PA 刺激时间梯度分为 4 组:0 h 组(CON 组)、6 h 组、12 h 组、24 h 组。免疫蛋白电泳检测 PA 浓度梯度分为 6 组:0 μ mol/L 组(CON 组)、50 μ mol/L 组、100 μ mol/L 组、150 μ mol/L 组、200 μ mol/L 组、300 μ mol/L 组。

1.4.2 实验组 CCK8 检测、蛋白印迹测定分为 6 组:对照组(CON)、PA(200 μ mol/L)组、CON+TMZ3 (10 μ mol/L)组、PA(200 μ mol/L)+TMZ1 (0.1 μ mol/L)组、PA (200 μ mol/L)+TMZ2 (1 μ mol/L)组、PA (200 μ mol/L)+TMZ3 (10 μ mol/L)组。油红 O 染色分为 4 组:CON 组、PA(200 μ mol/L)组、CON+TMZ3 (10 μ mol/L)组、PA(200 μ mol/L)+TMZ3 (10 μ mol/L)组。

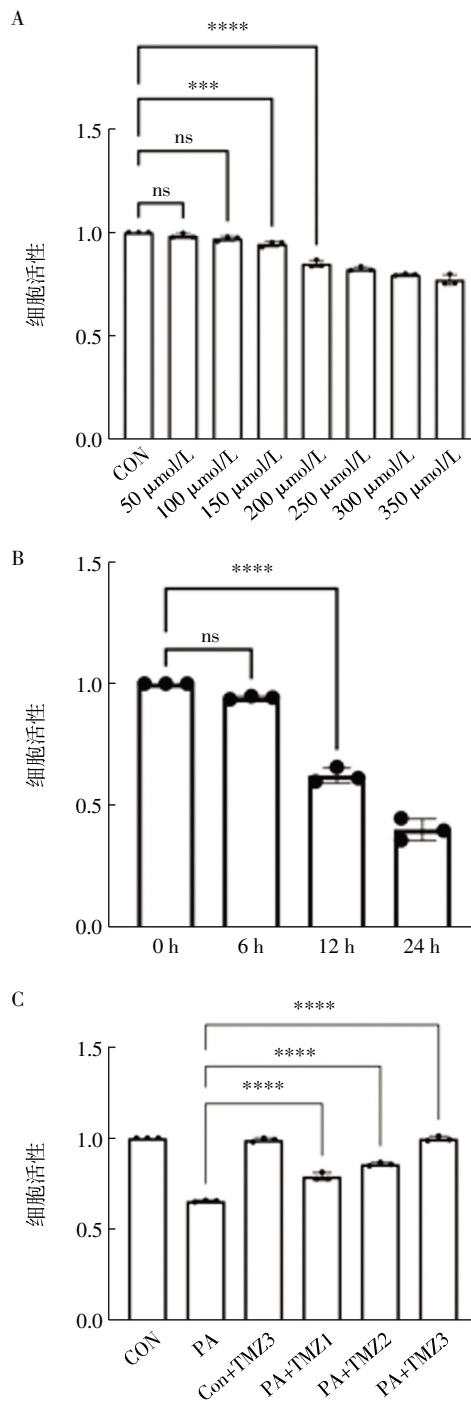
1.4 统计学处理 所有实验均重复 3 次,数据符合正态分布,使用 Graphpad prism8.0、Image J 等软件进行数据的统计分析 with 图像绘制。两组样本均数比较使用 *t* 检验分析,多组样本均数比较采用单因素方差分析法, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞活性检测 预实验组:与 CON 组相比,200 μ mol/L PA 组细胞活性明显下降($t=15.8$, $P<0.05$),随着 PA 浓度升高,细胞活性下降明显($F=140.9$, $P<0.05$,图 1A)。与 CON 组相比,12 h 组细胞活力明显下降($t=20.82$, $P<0.05$),随着 PA 刺激时间

延长,细胞活性下降明显($F=1.829$, $P<0.05$,图 1B)。根据上述结果,以 PA 200 μ mol/L 刺激 12 h 为后续干预标准。

实验组:与 PA 组相比,PA+TMZ1、PA+TMZ2、PA+TMZ3 组细胞活性均明显增强,随着 TMZ 浓度升高细胞活性逐渐增强($F=328.3$, $P<0.05$,图 1C)。



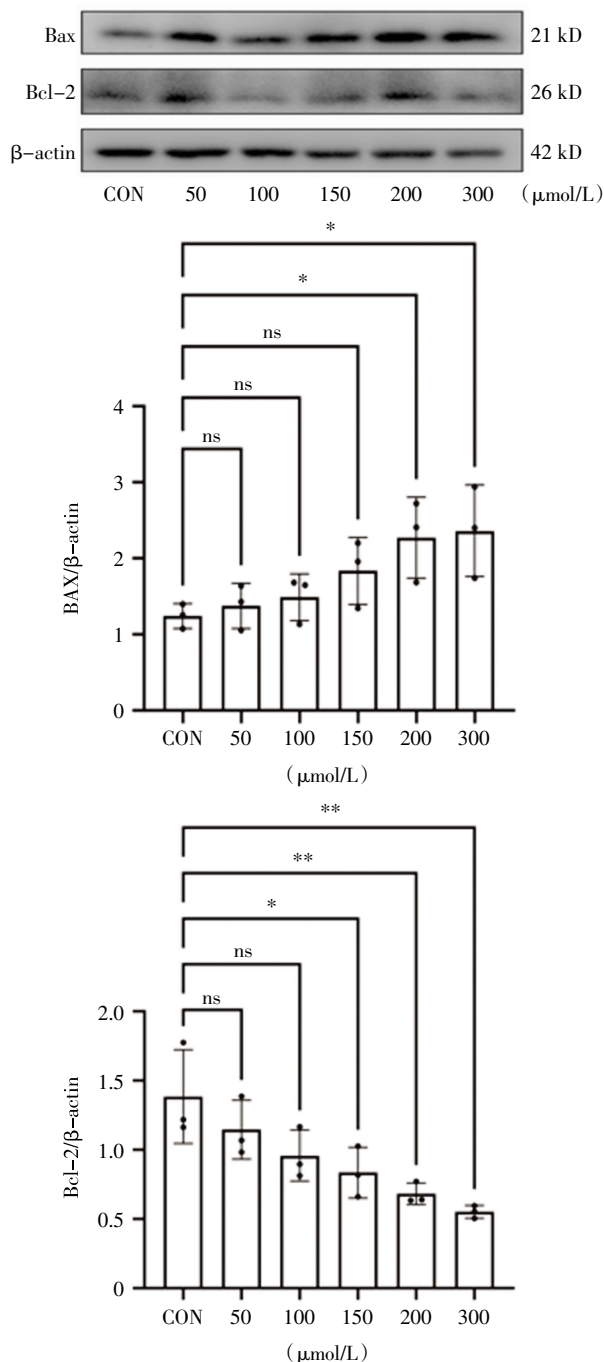
注: A:不同浓度(0~350 μ mol/L)PA 刺激 H9C2 细胞 12 h 各组细胞活性的变化;B:200 μ mol/L PA 刺激 H9C2 细胞,不同时间(0~24 h)细胞活性的变化;C:经 TMZ 预处理 1 h 后 200 μ mol/L PA 刺激 12 h 各组细胞活性变化情况;PA: 棕榈酸;TMZ: 曲美他嗪;*** $P<0.05$, **** $P<0.001$, ns: 差异无统计学意义

图 1 细胞活性检测

Fig.1 Cell viability detection

2.2 凋亡相关蛋白表达的变化 预实验组:与 CON 组相比,200 $\mu\text{mol/L}$ PA 组 Bax 蛋白表达明显升高 ($t=3.201, P<0.05$),150 $\mu\text{mol/L}$ PA 组 Bcl-2 蛋白表达明显降低 ($t=2.479, P<0.05$),随着 PA 浓度升高, Bax 蛋白表达升高明显 ($F=3.854, P<0.05$)、Bcl-2 蛋白表达下降明显 ($F=7.156, P<0.05$,图 2)。

实验组:与 PA 组相比,PA+TMZ2、PA+TMZ3 组 Bax 蛋白表达降低 ($t=3.392, 4.275$, 均 $P<0.05$)、Bcl-2



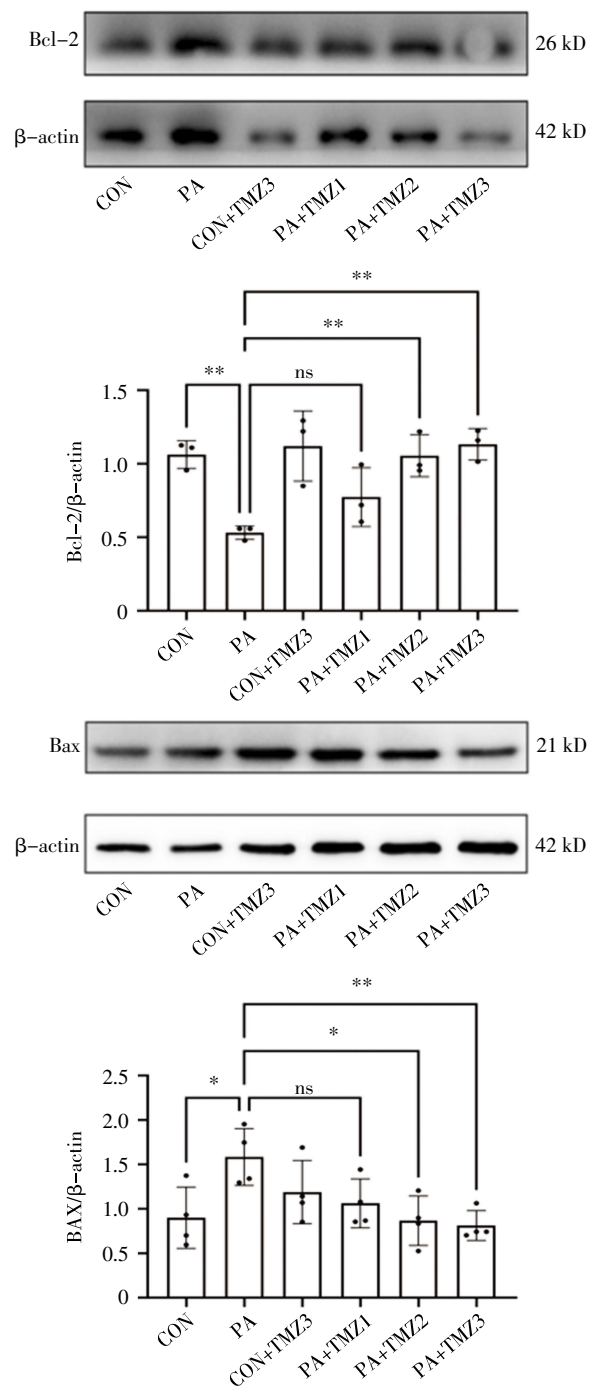
注:β-actin:内参蛋白;PA:棕榈酸;与 CON 组相比,* $P<0.05$, ns:差异无统计学意义

图2 不同浓度 PA 刺激下各组 Bax、Bcl-2 蛋白表达情况

Fig.2 Expression of Bax and Bcl-2 proteins under PA stimulation of different concentrations in each group

蛋白表达升高 ($t=6.028, 8.952$, 均 $P<0.05$),且随着 TMZ 浓度的增加,Bax 表达降低、Bcl-2 表达增加 ($F=3.763, 7.548$, 均 $P<0.05$,图 3)。

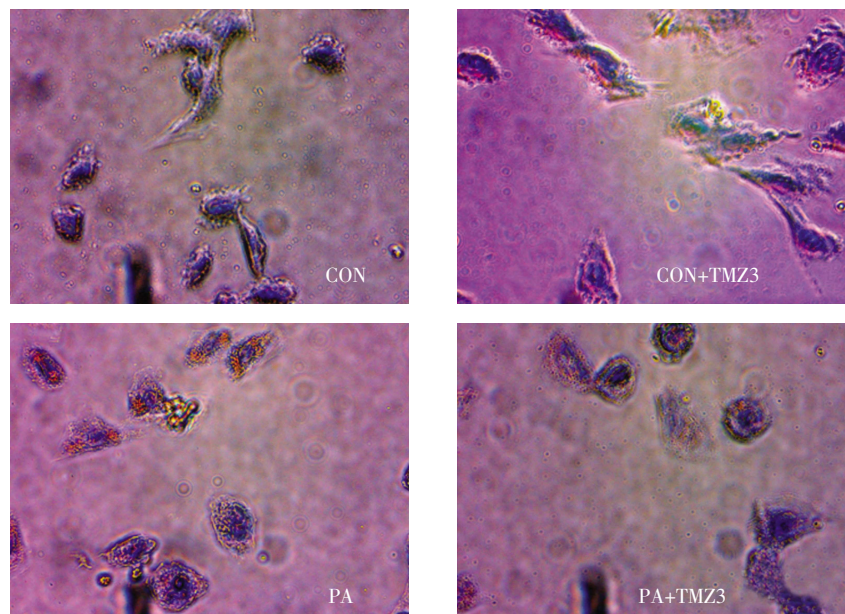
2.3 细胞内脂质含量 油红 O 染色各组细胞,橘红色为脂质,倒置显微镜 40 倍下观察,与 CON 组相比,PA 组 H9C2 细胞内红色脂滴明显增多;与 PA 组相比,PA+TMZ3 组红色脂滴明显减少(图 4)。



注:β-actin:内参蛋白;* $P<0.05$,** $P<0.001$,ns:差异无统计学意义

图3 不同浓度 TMZ 预处理 1 h 后 PA 刺激 12 h, Bax、Bcl-2 表达情况

Fig.3 Expression of Bax and Bcl-2 under PA stimulation for 12 hours after pretreatment with different concentrations of TMZ



注:细胞内橘红色为脂滴

图 4 油红 O 染色

Fig.4 Oil red O staining

3 讨论

糖尿病心肌病(DMC)作为一种独立于冠心病和高血压等危险因素的疾病,最终会导致心律失常、心力衰竭、心肌梗死,严重情况下还会导致猝死^[20]。然而,DCM的发病机制复杂,包括氧化应激、炎症、代谢底物利用障碍、胰岛素信号转导、线粒体功能障碍和内质网应激等因素。这些元素共同激发或促进心肌细胞结构和功能的改变。在最近的研究中,研究人员强调了 DCM 与细胞凋亡之间的密切联系^[21]。表明 DMC 心功能不全与糖脂毒性诱导的细胞凋亡直接相关,通过调节细胞凋亡可能对 DCM 产生积极作用。由于成年心脏细胞几乎不再增殖,心肌细胞数量下降诱发的心脏功能异常将会是不可逆的,抑制心肌细胞凋亡是延缓甚至逆转心力衰竭的重要靶点。

TMZ 是临床实践中治疗心绞痛和缺血性心脏病的常用药物,是哌嗪的衍生物,对心肌能量代谢有主要影响。有研究表明,TMZ 治疗 DCM 的疗效主要与两个方面有关。首先,它直接增强心肌能量代谢,提供细胞保护。其次,TMZ 具有间接的抗氧化作用,可抑制心肌纤维化和促进自噬^[22]。糖尿病患者早期服用 TMZ 可预防或减少心肌损伤,降低缺血性心脏病风险。尽管 TMZ 对 DCM 有保护作用,但其疗效的确切机制尚不清楚,也尚不清楚 TMZ 对 DMC 心肌细胞凋亡的影响。

Bax/Bcl-2 家族是细胞凋亡过程中的经典蛋白,

存在于线粒体内,Bax 蛋白表达增加可促进细胞凋亡过程,而 Bcl-2 蛋白表达增加可以抑制细胞凋亡。在本实验中,可以观察到随着 PA 浓度逐渐增加,H9C2 细胞活性逐渐下降,Bax 表达增加,Bcl-2 表达降低,证明 PA 刺激可以引起 H9C2 细胞脂毒性损伤,诱导细胞凋亡。与 PA 组相比,当给予高浓度的 TMZ 预处理后,H9C2 细胞活性增强,Bax 表达降低、Bcl-2 表达升高,细胞凋亡过程被抑制。且随着 TMZ 浓度的升高,上述作用逐渐明显。这证明 TMZ 可以抑制 PA 诱导的细胞凋亡,其保护作用可能与浓度相关。

脂毒性损伤的主要机制包括游离脂肪酸在细胞内的过度贮存。当血浆游离脂肪酸增加时,过氧化物酶体增殖物活化受体 α (PPAR α)活化,通过激活蛋白激酶 C 并促使 TBC1D1(Tre-2/BUB2/cdc1 domain family 1)磷酸化,正反馈诱导脂肪酸转位酶易位至心肌细胞膜上,促进游离脂肪酸摄取。抑制蛋白激酶 C 或 TBC1D1 可以减弱游离脂肪酸诱导的 CD36 易位、减少心肌细胞游离脂肪酸摄取。TMZ 可以抑制细胞线粒体内的长链 3 酮酰辅酶 A 硫解酶,减少脂肪酸摄取。在油红 O 染色中也观察到 PA 组 H9C2 细胞内存在大量红色脂滴,与 PA 组相比,TMZ 预处理后细胞内脂滴含量明显减少,提示 TMZ 的保护作用可能与游离脂肪酸在细胞内摄取与分布、调控上游线粒体相关蛋白表达相关。但具体上游信号转导通路是否与 PPAR α 通路相关需要进一步研究。

参考文献:

- [1] JIA G, DEMARCO V G, SOWERS J R. Insulin resistance and hyperinsulinaemia in diabetic cardiomyopathy[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2016, 12(3): 144–153.
- [2] DILLMANN W H. Diabetic cardiomyopathy[J]. *Circ Res*, 2019, 124(8): 1160–1162.
- [3] SHIMABUKURO M, ZHOU Y T, LEVI M, et al. Fatty acid-induced beta cell apoptosis: a link between obesity and diabetes[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95(5): 2498–2502.
- [4] HARDY S, LANGELIER Y, PRENTKI M. Oleate activates phosphatidylinositol 3 kinase and promotes proliferation and reduces apoptosis of MDA-MB-231 breast cancer cells, whereas palmitate has opposite effects[J]. *Cancer Res*, 2000, 60(22): 6353–6358.
- [5] LISTENBERGER L L, SCHAFFER J E. Mechanisms of lipooptosis: implications for human heart disease[J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2002, 12(3): 134–138.
- [6] ZHU S, JIAO W, XU Y, et al. Palmitic acid inhibits prostate cancer cell proliferation and metastasis by suppressing the PI3K/Akt pathway[J]. *Life Sci*, 2021, 286: 120046.
- [7] WANG F, WANG J, LIANG X, et al. Ghrelin inhibits myocardial pyroptosis in diabetic cardiomyopathy by regulating ERS and NL-RP3 inflammasome crosstalk through the PI3K/AKT pathway[J]. *J Drug Target*, 2024, 32(2): 148–158.
- [8] SINGH R, LETAI A, SAROSIEK K. Regulation of apoptosis in health and disease: the balancing act of BCL-2 family proteins[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20(3): 175–193.
- [9] DEL RE D P, AMGALAN D, LINKERMANN A, et al. Fundamental mechanisms of regulated cell death and implications for heart disease[J]. *Physiol Rev*, 2019, 99(4): 1765–1817.
- [10] LOPASCHUK G D, USSHER J R, FOLMES C D, et al. Myocardial fatty acid metabolism in health and disease[J]. *Physiol Rev*, 2010, 90(1): 207–258.
- [11] ALLIBARDI S, CHERCHIA S L, MARGONATO V, et al. Effects of trimetazidine on metabolic and functional recovery of postischemic rat hearts[J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 1998, 12(6): 543–549.
- [12] HAMDAN M, URIEN S, LE LOUET H, et al. Inhibition of mitochondrial carnitine palmitoyltransferase-1 by a trimetazidine derivative, S-15176[J]. *Pharmacol Res*, 2001, 44(2): 99–104.
- [13] GUARNIERI C, MUSCARI C. Beneficial effects of trimetazidine on mitochondrial function and superoxide production in the cardiac muscle[J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 1990, 4 (Suppl 4): 814–815.
- [14] VEITCH K, MAISIN L, HUE L. Trimetazidine effects on the damage to mitochondrial functions caused by ischemia and reperfusion[J]. *Am J Cardiol*, 1995, 76(6): 25B–30B.
- [15] GUARNIERI C, MUSCARI C. Beneficial effects of trimetazidine on mitochondrial function and superoxide production in the cardiac muscle of monocrotaline-treated rats[J]. *Biochem Pharmacol*, 1988, 37(24): 4685–4688.
- [16] MORILLAS BLASCO P J, HERNÁNDEZ MARTINEZ A, AZORÍN VILLENA I, et al. Mitochondrial changes induced by trimetazidine in the myocardium[J]. *Med Sci Monit*, 2005, 11(6): BR162–BR167.
- [17] MONTEIRO P, DUARTE A I, GONÇALVES L M, et al. Protective effect of trimetazidine on myocardial mitochondrial function in an ex-vivo model of global myocardial ischemia[J]. *Eur J Pharmacol*, 2004, 503(1–3): 123–128.
- [18] MORIN D, ELIMADI A, SAPENA R, et al. Evidence for the existence of [3H]-trimetazidine binding sites involved in the regulation of the mitochondrial permeability transition pore[J]. *Br J Pharmacol*, 1998, 123(7): 1385–1394.
- [19] KUZMICIC J, PARRA V, VERDEJO H E, et al. Trimetazidine prevents palmitate-induced mitochondrial fission and dysfunction in cultured cardiomyocytes[J]. *Biochem Pharmacol*, 2014, 91(3): 323–336.
- [20] CHEN Y, HUA Y, LI X, et al. Distinct types of cell death and the implication in diabetic cardiomyopathy[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 42.
- [21] WEI J, ZHAO Y, LIANG H, et al. Preliminary evidence for the presence of multiple forms of cell death in diabetes cardiomyopathy[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2022, 12(1): 1–17.
- [22] LU Q B, DING Y, LIU Y, et al. Metrn1 ameliorates diabetic cardiomyopathy via inactivation of cGAS/STING signaling dependent on LKB1/AMPK/ULK1-mediated autophagy[J]. *J Adv Res*, 2023, 51: 161–179.
- (2024-08-22 收稿)
- +++++
- (上接第 29 页)
- [17] CHAUHAN S K, EL ANNAN J, ECOIFFIER T, et al. Autoimmunity in dry eye is due to resistance of Th17 to Treg suppression[J]. *J Immunol*, 2009, 182(3): 1247–1252.
- [18] IVANOV I I, MCKENZIE B S, ZHOU L, et al. The orphan nuclear receptor ROR γ directs the differentiation program of proinflammatory IL-17+ T helper cells[J]. *Cell*, 2006, 126(6): 1121–1133.
- [19] CAPONE A, VOLPE E. Transcriptional regulators of T helper 17 cell differentiation in health and autoimmune diseases[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 348.
- [20] TAN J, LIU H, HUANG M, et al. Small molecules targeting ROR γ t inhibit autoimmune disease by suppressing Th17 cell differentiation[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(8): 697.
- [21] KHANAM A, TREHANPATI N, SARIN S K. Increased interleukin-23 receptor (IL-23R) expression is associated with disease severity in acute-on-chronic liver failure[J]. *Liver Int*, 2019, 39(6): 1062–1070.
- [22] GAFFEN S L, JAIN R, GARG A V, et al. IL-23-IL-17 immune axis: discovery, mechanistic understanding, and clinical testing[J]. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14(9): 585–600.
- [23] 吴怡媛, 陈思思, 杨超, 等. 白细胞介素-23 受体过表达对实验性自身免疫性葡萄膜炎小鼠辅助性 T 细胞 17/调节性 T 细胞平衡的影响[J]. *中华眼底病杂志*, 2022, 38(5): 389–395.
- [24] YASUDA K, TAKEUCHI Y, HIROTA K. The pathogenicity of Th17 cells in autoimmune diseases[J]. *Semin Immunopathol*, 2019, 41(3): 283–297.
- [25] CHEN Y, CHAUHAN S K, SHAO C, et al. IFN- γ -Expressing Th17 cells are required for development of severe ocular surface autoimmunity[J]. *J Immunol*, 2017, 199(3): 1163–1169.
- [26] CHEN S, WANG J, ZHANG K, et al. LncRNA Neat1 targets NonO and miR-128-3p to promote antigen-specific Th17 cell responses and autoimmune inflammation[J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(9): 610.
- (2024-08-12 收稿)