·临床研究·

肝细胞生长因子/转化生长因子-β_1对人心房成纤维细胞增殖的作用

陈建泉[1],张建成[2*],陈林[1],林亚洲[1]
([1]福建省立医院心血管内科,福州 350001;[2]福建医科大学省立临床医学院,福州 350000)

【摘 要】 **目的** 探讨肝细胞生长因子(HGF)和转化生长因子-β_1(TGF-β_1)在体外培养的人心房成纤维细胞增殖中的作用,观察HGF对人心房成纤维细胞TGF-β_1表达的影响。**方法** 入选福建省立医院心血管外科接受换瓣手术的风湿性心脏病(RHD)患者20例,其中窦性心律(SR)者和慢性心房颤动(CAF)者各10例,分别作为SR组和CAF组。记录患者左心房内径(LAD)。换瓣术中无菌条件下取适量右心耳组织,人心房成纤维细胞原代培养。水溶性磷酸化四唑盐-1(WST-1)比色法检测HGF和TGF-β_1在不同浓度(HGF:25,50,100,200 ng/ml;TGF-β_1:0.1,1,10,100 ng/ml)和不同时间(12,24,48,72 h)对人心房成纤维细胞增殖的影响。检测HGF/TGF-β_1对人心房成纤维细胞增殖的影响。半定量逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)技术检测心房成纤维细胞TGF-β_1 mRNA水平,分为3组:SR组、CAF组和HGF干预组(CAF组中再加入100 ng/ml HGF干预48 h)。采用SPSS 19.0软件进行数据处理。两组间比较采用t检验,多组间比较采用单因素方差分析。**结果** CAF组患者的LAD显著高于SR组[(5.76±1.37) *vs* (4.43±0.77)cm]。HGF和TGF-β_1对人心房成纤维细胞的增殖分别具有抑制和促进作用,且与剂量($r_{HGF}=-0.686$;$r_{TGF-\beta_1}=0.655$)和时间($r_{HGF}=0.557$;$r_{TGF-\beta_1}=0.840$)显著相关($P<0.05$),其中:100 ng/ml HGF作用48 h抑制作用最显著;10 ng/ml TGF-β_1作用48 h促进作用最显著。HGF/TGF-β_1对人心房成纤维细胞增殖具有抑制作用。与CAF组相比(1.78±0.98),SR组(0.92±0.66)和HGF干预组(0.67±0.64)的TGF-β_1 mRNA表达水平均显著减少,差异具有统计学意义($P<0.01$)。**结论** CAF患者LAD增大,TGF-β_1分泌增多。HGF能够抑制人心房成纤维细胞TGF-β_1的生成,部分拮抗TGF-β_1促增殖作用。

【关键词】 转化生长因子β_1;肝细胞生长因子;心房颤动;心房成纤维细胞;增殖
【中图分类号】 R541 【文献标志码】 A 【DOI】 10.11915/j.issn.1671-5403.2017.11.189

Effects of hepatocyte growth factor and transforming growth factor-β_1 on proliferation of primarily cultured human atrial fibroblasts

CHEN Jian-Quan[1], ZHANG Jian-Cheng[2*], CHEN Lin[1], LIN Ya-Zhou[1]
([1]Department of Cardiology, Fujian Provincial Hospital, Fuzhou 350001, China; [2]Provincial Clinical School of Fujian Medical University, Fuzhou 350000, China)

【**Abstract**】 **Objective** To investigate the role of hepatocyte growth factor (HGF) and transforming growth factor beta 1 (TGF-β_1) on the proliferation of human atrial fibroblasts cultured *in vitro*, and determine the effect of HGF on the expression of TGF-β_1 in human atrial fibroblasts. **Methods** A total of 20 patients with rheumatic heart disease (RHD) who underwent cardiac valve replacement in the Department of Cardiovascular Surgery of Fujian Provincial Hospital were recruited in this study. They were 10 cases of sinus rhythm (SR) and 10 cases of chronic atrial fibrillation (CAF), and were assigned into as SR group and CAF group accordingly. The data of left atrial diameter (LAD) were collected for each patient. After moderate right atrial appendage tissues were obtained during the operation, the atrial fibroblasts were isolated and primarily cultured. Then the obtained cells were treated with different concentrations of HGF (25, 50, 100 and 200 ng/ml) and TGF-β_1 (0.1, 1, 10 and 100 ng/ml) for different times (12, 24, 48 and 72 h), the effects of the concentrations and time periods on the proliferation of atrial fibroblasts were studied by water-soluble sulfonated tetrazolium (WST-1). The expression of TGF-β_1 at mRNA level in atrial fibroblasts from the SR, CAF and HGF intervention group (the cells from CAF group after 100 ng/ml HGF treatment for 48 h) were analyzed with RT-PCR. SPSS statistics 19.0 was used for data processing. Student's t test was used for the comparison between groups, and single factor analysis of variance was used for intergroup comparison. **Results** LAD was significantly larger in the CAF patients than the SR patients [(5.76±1.37) *vs* (4.43±0.77)cm]. HGF and TGF-β_1 respectively inhibited and promoted the proliferation of human atrial fibroblasts in dose-dependent ($r_{HGF}=-0.686$, $r_{TGF-\beta_1}=0.655$,

收稿日期: 2017-07-31; **修回日期**: 2017-08-18
基金项目: 福建省卫生厅重点创新项目(2007.CX-1)
通信作者: 张建成, E-mail: fjzhangjiancheng@126.com

$P<0.05$) and time-dependent manners ($r_{HGF}=0.557$, $r_{TGF\text{-}\beta_1}=0.840$, $P<0.05$), with a peak action of 100 ng/ml HGF for 48 h, and of 10 ng/ml TGF-β_1 for 48 h. TGF-β_1 plus HGF showed inhibitory effect on cell proliferation. The mRNA expression level of TGF-β_1 was decreased in both SR group (0.92 ± 0.66) and HGF intervention group (0.67 ± 0.64) when compared with CAF group (1.78 ± 0.98, $P<0.01$). **Conclusion** The CAF patients have larger LAD and increased TGF-β_1 expression. HGF inhibits TGF-β_1 expression in human atrial fibroblasts, and partially counteracts the promoting role of TGF-β_1 on cell proliferation.

【Key words】 transforming growth factor-β_1; hepatocyte growth factor; atrial fibrillation; atrial fibroblasts; proliferation

This work was supported by the Key Innovation Project of Fujian Provincial Department of Health (2007. CX-1).

Corresponding author: *ZHANG Jian-Cheng*, *E-mail*: *fjzhangjiancheng@126.com*

心房颤动的发病率高,是风湿性心脏病(rheumatic heart disease,RHD)患者常见的心律失常。心房颤动与心房纤维化有关[1]。心房纤维化是心房重塑的突出表现,是以胶原为主要组成的细胞外基质(extracellular matrix,ECM)的病理积累[2]。心肌成纤维细胞(cardiac fibroblasts,CFs)是心肌纤维化的效应细胞。CFs 增殖、分泌胶原增多引起心肌纤维化。病理情况下,CFs 增殖并转化为肌成纤维细胞(myofibroblast,Mfb)在心肌重塑中起关键作用[3]。α-平滑肌肌动蛋白(alpha smooth muscle actin,α-SMA)是肌成纤维细胞的标志。细胞因子和生长因子与心肌纤维化相关研究较热。转化生长因子-β_1(transforming growth factor-beta 1,TGF-β_1)介导 CFs 转化为 Mfb,促进 ECM 过度生产和生长因子分泌,在心肌纤维化中起重要作用[4];但对 CFs 转化过程的抑制因素知之甚少。肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor,HGF)可有效抗纤维化,然而,很少有关于 HGF 如何影响心房成纤维细胞增殖及 TGF-β_1 刺激 CFs 激活的信息。本实验以 RHD 患者心房成纤维细胞为靶细胞,研究 HGF/TGF-β_1 对人心房成纤维细胞增殖的作用,探讨 HGF 对人心房成纤维细胞 TGF-β_1 分泌的影响,从而为心房颤动患者心房纤维化的分子机制研究及防治措施提供新的思路和依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

入选福建省立医院心血管外科接受换瓣手术的 RHD 患者 20 例,年龄 37~62 岁,其中窦性心律(sinus rhythm,SR)者和慢性心房颤动(chronic atrial fibrillation,CAF)者[心房颤动持续时间(55.74±35.27)个月)]各 10 例,分别作为 SR 组和 CAF 组。入选标准:(1)研究经过患者知情同意及我院伦理委员会批准(K2010-08-05);(2)术前需停用抗心律失常药物至少 5 个半衰期。排除合并其他器质性心脏病、严重肝肾功能衰竭、明显心力衰竭及高血压和甲亢症患者。

1.2 方法

收集所有患者术前心电图、动态心电图及超声心动图等临床资料,记录左心房内径(left atrial diameter,LAD)。

1.2.1 实验材料与仪器 胰蛋白酶(Amersco,美国),Ⅱ型胶原酶(Sigma,美国),DMEM 高糖培养基(Gibico,美国),胎牛血清(Hyclone,美国),免疫荧光染色试剂盒-抗小鼠 cy3、水溶性磷酸化四唑盐-1(WST-1)细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒(碧云天生物技术研究所),小鼠波形蛋白及 α-SMA 单克隆抗体(Sigma,美国),逆转录-聚合酶链反应(reverse transcription-PCR,RT-PCR)A3500 试剂盒(Promega,美国),Trizol(Invitrogen,美国),人重组 HGF、TGFβ1(Peprotech,美国)。酶联免疫检测仪(BIO-TEK EL-311,美国)。

1.2.2 人心房(肌)成纤维细胞培养及鉴定 患者接受换瓣术时,体外循环建立之前,严格无菌操作,取新鲜右心耳约 200 mg,采用胰蛋白酶和Ⅱ型胶原酶消化法及差速贴壁法体外分离心房成纤维细胞[5],接种于培养瓶(含 20% 胎牛血清的 DMEM 培养液),在 37℃、5% CO_2 培养箱内培养,按 1∶2 传代,采用第 2 代细胞。倒置显微镜下观察细胞生长情况。免疫荧光法检测细胞 α-SMA,波形蛋白染色,阳性鉴定为心房 Mfb。

1.2.3 WST-1 比色法检测 收集第 2~3 代对数生长期的心房成纤维细胞,用 0.25% 胰蛋白酶消化,活细胞计数,调整细胞悬液浓度后接种在 96 孔板,每孔 5×10^3 个细胞,每孔 200 μl,CO_2 培养箱中继续孵育 24 h,弃培养液,改用无血清 DMEM 培养液培养 24 h,细胞同步进入静止生长期。(1)检测不同浓度 HGF 和 TGF-β_1 对人心房成纤维细胞增殖的影响。实验组分别换用含不同浓度的 TGF-β_1(浓度分别为 0.1,1,10,100 ng/ml)和 HGF(浓度分别为 25,50,100,200 ng/ml)的培养基,单纯培养基为含 2% 胎牛血清的 DMEM 培养液,即设为空白对照组。每孔 200 μl,每组 3 复孔,重复 3 次。继续孵育 48 h,然后各孔加入 WST-1 溶液 20 μl,作用 4 h。酶

联免疫检测仪测定光密度(optical density, OD)值,滤光片波长 450 nm。(2)检测不同时间 HGF 和 TGF-β_1 对人心房成纤维细胞增殖的影响。实验组分别给予含 TGF-β_1(10 ng/ml)和 HGF(100 ng/ml)的培养基干预。实验组和对照组细胞分别接种于 4 块 96 孔板,每板 8 复孔。分别培养 12, 24, 48, 72 h 后,随机抽取实验组和对照组 96 孔板各 1 块。酶标仪测定吸光度值($A_{450\ nm}$)。(3)检测 HGF/TGF-β_1 对人心房成纤维细胞增殖的影响。实验组心房成纤维细胞分别加入含 TGF-β_1(10 ng/ml)、HGF(100 ng/ml)和 TGF-β_1(10 ng/ml)+ HGF(100 ng/ml)的培养基,同样设空白对照组,测定 $A_{450\ nm}$值。

1.2.4 RT-PCR 检测 TGF-β_1 mRNA 水平 消化收集第 2 ~ 3 代的心房成纤维细胞,以 1×10^6/ml 的密度接种于 6 孔板培养板中。分为 3 组:SR 组、CAF 组和 HGF 干预组(CAF 组中再加入 100 ng/ml HGF 干预 48 h)。以 Trizol 及逆转录试剂盒说明书提取各实验组细胞总 RNA,并逆转录成 cDNA,PCR 扩增,引物序列及扩增片段如下。(1)GAPDH:上游 5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3',下游 5'-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3',长度 452 bp。(2)TGF-β_1:上游 5'-CAGAAATACAGCAACAATTCCTGG-3',下游 5'-TTGCAGTGTGTTATCCCTGCTGTC-3',长度 186 bp。PCR 反应共 30 个循环。产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳,利用凝胶成像系统扫描分析目标条带,各组 TGF-β_1 基因与内参照 GAPDH 片段的条带灰度比值,即为各实验组细胞 TGF-β_1 mRNA 的相对表达水平。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 19.0 软件进行数据处理。计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析。$P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组患者 LAD 比较

SR 组和 CAF 组的 LAD 分别为(4.43 ± 0.77)和(5.76 ± 1.37)cm,两组比较,差异具有统计学意义($P<0.05$),CAF 组患者 LAD 显著扩大。

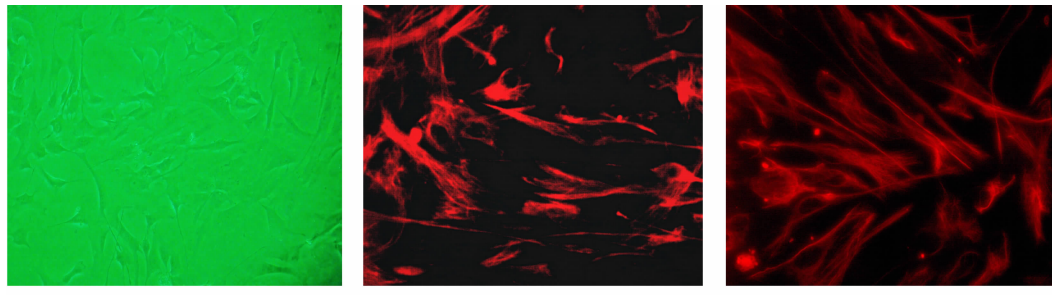
2.2 人心房成纤维细胞的培养与鉴定

显微镜下可见原代培养的人心房成纤维细胞贴壁生长,呈梭形,细胞核椭圆形,常见 2 ~ 3 个核(图 1A)。波形蛋白及 α-SMA 免疫荧光染色显示,心房成纤维细胞胞浆均染成红色(图 1B 和 C),阳性鉴定为所需的 Mfb。

2.3 不同浓度HGF和TGF-β_1对人心房成纤维细胞增殖的影响

不同浓度的 HGF(0, 25, 50, 100, 200 ng/ml)干预人心房成纤维细胞后所测得的 $A_{450\ nm}$ 值分别为 0.464 ± 0.070, 0.403 ± 0.058, 0.365 ± 0.070, 0.294 ± 0.052, 0.282 ± 0.047。各浓度组 $A_{450\ nm}$ 值与空白对照组相比差异均具有统计学意义($P<0.05$),HGF 对心房成纤维细胞增殖的抑制作用呈剂量相关性($r=-0.686$, $P<0.05$),相关方程为 $y=0.426-0.001x$。但 100 ng/ml 和 200 ng/ml 的 HGF 间,抑制增殖作用差异无统计学意义($P>0.05$),说明 HGF 浓度为 100 ng/ml 时,其抑制心房成纤维细胞增殖作用可达最强。

不同浓度的 TGF-β_1(0, 0.1, 1, 10, 100 ng/ml)干预人心房成纤维细胞后所测得的 $A_{450\ nm}$ 值分别为 0.460 ± 0.041, 0.483 ± 0.037, 0.644 ± 0.050, 0.988 ± 0.065, 0.995 ± 0.060。各浓度组 $A_{450\ nm}$ 值与空白对照组相比差异均具有统计学意义($P<0.05$),TGF-β_1 对心房成纤维细胞增殖的促进作用呈剂量相关性($r=0.655$, $P<0.05$),相关方程为 $y=0.004x+0.625$。但 10 ng/ml 和 100 ng/ml 的 TGF-β_1 间,促增殖作用差异无统计学意义($P>0.05$),



A B C

图 1 原代培养细胞的形态学观察及免疫荧光鉴定

Figure 1 Morphological observation and immunofluorescence identification for primary cultured cells

A: under microscope (×250); B: vimentin staining (×400); C: α-SMA staining (×400). α-SMA: alpha smooth muscle actin

说明 TGF-β_1 浓度为 10 ng/ml 时,其促进人心房成纤维细胞增殖作用可达最强。

2.4 不同时间 HGF 和 TGF-β_1 对人心房成纤维细胞增殖的影响

除 12 h 外,各时间点 $A_{450\ nm}$值与同期对照组相比差异均具有统计学意义($P<0.05$)。HGF 抑制心房成纤维细胞增殖作用呈时间相关性($r=0.557$, $P<0.05$),相关方程为 $y=0.270+0.002x$;48 h 和 72 h 时的 $A_{450\ nm}$值差异无统计学意义($P>0.05$),说明 48 h 时 HGF 对人心房成纤维细胞增殖的抑制作用最明显。TGF-β_1 促进心房成纤维细胞增殖作用呈时间相关性($r=0.840$, $P<0.05$),相关方程为 $y=0.01x+0.297$;48 h 和 72 h 时的 $A_{450\ nm}$值差异无统计学意义($P>0.05$),说明 48 h 时 TGF-β_1 对人心房成纤维细胞增殖的促进作用最明显(表 1)。

2.5 HGF/TGF-β_1 对人心房成纤维细胞增殖的交互作用

空白对照组、TGF-β_1 组、HGF 组和 TGF-β_1 + HGF 组的 $A_{450\ nm}$值分别为 0.519 ± 0.069, 0.910 ± 0.122, 0.263 ± 0.069, 0.393 ± 0.068。与空白对照组相比,TGF-β_1 组的 $A_{450\ nm}$值显著增高,而 HGF 组和 TGF-β_1 + HGF 组的 $A_{450\ nm}$值均显著降低,差异均具有统计学性意义($P<0.05$)。与 TGF-β_1 + HGF 组相比,HGF 组 $A_{450\ nm}$值显著降低,TGF-β_1 组 $A_{450\ nm}$值显著增加,差异均具有统计学性意义($P<0.05$)。表明 TGF-β_1 和 HGF 可分别促进和抑制人心房成纤维细胞增殖,且 HGF 能够部分拮抗 TGF-β_1 的促增殖作用。

2.6 HGF 对人心房成纤维细胞 TGFβ_1 mRNA 表达的影响

电泳结果显示,TGF-β_1 和 GAPDH 扩增后的电泳条带位置与设定的片段长度 186 bp 和 452 bp 一致(图 2)。SR 组、CAF 组和 HGF 干预组的 TGF-β_1 mRNA 相对表达水平分别为 0.92 ± 0.66, 1.78 ± 0.98, 0.67 ± 0.64。与 CAF 组相比,SR 组和 HGF 干预组的 TGF-β_1 mRNA 表达水平均显著减少,差异具有统计学意义($P<0.01$),说明 HGF 能够抑制人心房成纤维细胞 TGF-β_1 的分泌。

3 讨 论

心肌纤维化是许多心血管疾病的病因,包括心肌梗死、心肌病、高血压和心房颤动。心肌损伤导致不良心脏重塑和心肌纤维化。心房重塑包括电重塑和结构重塑,前者可逆,可采用肺静脉隔离和辅助消融心房颤动治疗[6],后者常不可逆,表现为心房扩大和心房纤维化,这可能是心房颤动触发和持续的基础[7]。本研究结果也表明 CAF 患者的 LAD 明显扩大。

表 1 不同时间 HGF 和 TGF-β_1 对人心房成纤维细胞增殖的影响

Table 1 Effect of HGF and TGF-β_1 intervention on proliferation of human atrial fibroblasts at different times

($n=30$, $A_{450\ nm}$, $\bar{x} \pm s$)

Group	12 h	24 h	48 h	72 h
HGF				
Test	0.230 ± 0.075	0.305 ± 0.060 *	0.378 ± 0.070 *	0.398 ± 0.072 *
Control	0.242 ± 0.078	0.383 ± 0.071	0.551 ± 0.059	0.596 ± 0.073
TGF-β_1				
Test	0.249 ± 0.055	0.687 ± 0.049 #	0.859 ± 0.067 #	0.907 ± 0.080 #
Control	0.243 ± 0.051	0.375 ± 0.028	0.566 ± 0.034	0.589 ± 0.051

HGF: hepatocyte growth factor; TGF-β_1: transforming growth factor-beta 1. Compared with HGF control group, * $P<0.05$; compared with TGF-β_1 control group, # $P<0.05$

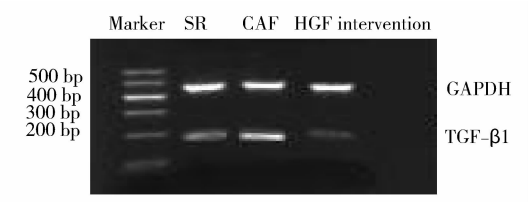


图 2 TGF-β_1 mRNA 表达的电泳图

Figure 2 Expression of TGF-β_1 mRNA

SR: sinus rhythm; CAF: chronic atrial fibrillation; HGF: hepatocyte growth factor; GAPDH: glyceraldehyde phosphate dehydrogenase; TGF-β_1: transforming growth factor-beta 1

CFs 占心脏细胞总数的 30%,起源于间充质的扁平梭形细胞,负责 ECM 代谢的动态平衡。心肌组织损伤后,CFs 增殖、分化成 Mfb,合成和分泌胶原等 ECM 蛋白能力增强,对瘢痕形成和伤口愈合至关重要[8]。α-SMA 是分化的标记。ECM 过度沉积,增加心肌组织刚度,导致心脏组织病理重构。因此,CFs 的异常增殖和转化是心肌纤维化的标志[9]。限制 CFs 增殖和转化可能是心肌纤维化的潜在治疗靶点。波形蛋白是 CFs 的主要结构蛋白,α-SMA 是

Mfb 的标志蛋白，本实验结果显示，显微镜下细胞形态良好，波形蛋白和 α-SMA 免疫荧光染色阳性，证实为人心房 Mfb。

TGF-β_1 在 CFs 的增殖、转化和心肌纤维化过程中起关键作用。研究发现，心肌梗死后大鼠心脏 TGF-β_1 升高，从而促进了 CFs 增殖、转化成 Mfb，同时可激活 Smad 信号通路，导致胶原纤维不恰当沉积、心脏功能受损[10]。过表达和基因敲除的模型中显示，TGF-β_1 可诱发心肌纤维化。Nakai 等[11]发现，TGF-β_1 与 LAD 呈正相关，这可能是心房颤动的后果。Choi 等[12]认为，TGF-β_1 介导的 Mfb 大量增殖与心房颤动中心肌纤维化相关。Yi 等[13]探讨了 TGF-β_1 诱导大鼠 CFs 增殖转化为 Mfb 的合适浓度和刺激时间，研究发现 TGF-β_1 在 5 ng/ml 的诱导浓度时，α-SMA 表达最高；TGF-β_1 诱导 α-SMA 的表达呈时间依赖性；5 ng/ml 的 TGF-β_1 刺激 48 h 可获得最大的 α-SMA 蛋白表达。Ghavami 等[14]研究结果表明，10 ng/ml 的 TGF-β_1 诱导可显著增加心肌梗死患者心房成纤维细胞Ⅰ型胶原和纤维连接蛋白的合成，在 72 h 和 120 h 时有明显的诱导细胞增殖作用。国内少有关于 TGF-β_1 对人心房成纤维细胞增殖作用的研究。本研究结果提示，TGF-β_1 可促进人心房成纤维细胞增殖，且呈剂量和时间相关性。10 ng/ml 质量浓度和 48 h 作用时间的 TGF-β_1 促增殖作用最强，这可能与此时 TGF-β_1 结合受体已接近饱和有关。峰值与上述文献差异可能与细胞来源、疾病种类和实验条件不同有关。本课题组先期研究发现，CAF 患者左心房明显扩大，心房组织及成纤维细胞的 α-SMA 及Ⅰ型胶原表达明显增多[15]。结合文献报道，推测 TGF-β_1 可能通过促进人心房成纤维细胞增殖，使 Mfb 进一步活化，增加分泌 α-SMA 及Ⅰ型胶原，促进心房纤维化及心房结构重塑，从而触发心房颤动。

TGF-β_1 是 HGF 的下游因子之一，在肺、肝、肾纤维化等病理条件下，HGF 具有抗纤维化的作用。关于 HGF 在心肌纤维化中的作用机制研究较少。Lu 等[16]在猪模型中研究发现，HGF 抑制 CFs 的增殖和分化，降低胶原合成分泌。Okayama 等[17]研究表明，HGF 对 TGF-β_1 或血管紧张素Ⅱ诱导内在的 CFs 转化成 Mfb 起抑制作用，说明 HGF 具有负向调节 CFs 的功能。HGF 生产过剩，与 ECM 的降解、抑制 TGF-β_1 有关。其他器官纤维化的大量证据表明，在 HGF 和 TGF-β_1 之间有一个反调节轴。Ghavami 等[14]证实 5 ng/ml TGF-β_1 刺激 48 h 后，CFs 的 HGF mRNA 和蛋白水平显著下调。TGF-β_1 中断 HGF 自分泌/旁分泌，可能导致 ECM 的调节失衡，这反过来又导致心脏和脉管系统的病理过程。本实验结果显示，HGF 抑制人心房成纤维细胞增殖，且呈剂量和时间相关性。100 ng/ml 质量浓度和 48 h 作用时间的 HGF 抑制增殖作用达峰值，这可能与此时 HGF 结合受体已接近饱和有关。结合文献，推测 HGF 可能通过抑制人心房成纤维细胞增殖与转化，抑制心房纤维化及心房结构重塑，从而拮抗心房颤动的发生，而且 HGF 可部分拮抗 TGF-β_1 的促增殖作用。RT-PCR 结果表明，CAF 患者心房成纤维细胞 TGF-β_1 表达明显增加，HGF 能够抑制人心房成纤维细胞转化因子分泌，从而拮抗其促心房纤维化作用。

总之，CAF 患者的 LAD 增大，TGF-β_1 分泌增多。HGF 能够抑制人心房成纤维细胞 TGF-β_1 的生成，部分拮抗 TGF-β_1 促增殖作用，有望为心房颤动的分子机制研究提供新的思路。对于 HGF 诱导细胞的凋亡是否参与 CFs 增殖的抑制过程，需要进一步实验研究。另外，本实验仅采用了 WST-1 法检测细胞增殖，其他较为精确的方法（如 BrdU 法）仍需进一步研究。

【参考文献】

[1] Adam O, Lohfelm B, Thum T, *et al*. Role of miR-21 in the pathogenesis of atrial fibrosis[J]. Basic Res Cardiol, 2012, 107(5): 278. DOI: 10.1007/s00395-012-0278-0.

[2] Engebretsen KV, Lunde IG, Strand ME, *et al*. Lumican is increased in experimental and clinical heart failure, and its production by cardiac fibroblasts is induced by mechanical and proinflammatory stimuli[J]. FEBS J, 2013, 280(10): 2382 - 2398. DOI: 10.1111/febs.12235.

[3] Lu D, Soleymani S, Madakshire R, *et al*. ATP released from cardiac fibroblasts *via* connexin hemichannels activates profibrotic P2Y2 receptors[J]. FASEB J, 2012, 26(6): 2580 - 2591. DOI: 10.1096/fj.12-204677.

[4] Zhou JP, Tang W, Feng Y, *et al*. Angiotensin-(1 - 7) decreases the expression of collagen Ⅰ *via* TGF-beta1/Smad2/3 and subsequently inhibits fibroblast-myofibroblast transition[J]. Clin Sci (Lond), 2016, 130(21): 1983 - 1991. DOI: 10.1042/CS20160193.

[5] 陈建泉，张建成，许春萱，等. 风湿性心脏病患者心房成纤维细胞的原代培养[J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志，2011，25(6)：522 - 524. DOI：10.13333/j.cnki.cjcpe.2011.06.029.
Chen JQ, Zhang JC, Xu CX, *et al*. The primary culture of atrial fibroblasts in rheumatic heart disease patients[J]. Chin J Card Pacing Electrophysiol, 2011, 25(6): 522 - 524. DOI: 10.13333/j.cnki.cjcpe.2011.06.029.

[6] 郭文杰，徐伟豪，张玉霄，等. 持续性心房纤颤的辅助消融策略[J]. 中华老年多器官疾病杂志，2015，14(9)：716 - 720. DOI：10.11915/j.issn.1671-5403.2015.09.163.
Guo WJ, Xu WH, Zhang YX, *et al*. Adjunct ablation strategies for

persistent atrial fibrillation[J]. Chin J Mult Organ Dis Elderly, 2015, 14(9): 716 - 720. DOI: 10.11915/j.issn.1671-5403.2015.09.163.

[7] Tan AY, Zimetbaum P. Atrial fibrillation and atrial fibrosis[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2011, 57(6): 625 - 629. DOI: 10.1097/FJC.0b013e3182073c78.

[8] Lighthouse JK, Small EM. Transcriptional control of cardiac fibroblast plasticity[J]. J Mol Cell Cardiol, 2016, 91: 52 - 60. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2015.12.016.

[9] Weber KT, Sun Y, Bhattacharya SK, *et al*. Myofibroblast-mediated mechanisms of pathological remodelling of the heart[J]. Nat Rev Cardiol, 2013, 10(1): 15 - 26. DOI: 10.1038/nrcardio.2012.158.

[10] Brown L. Cardiac extracellular matrix: a dynamic entity[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2005, 289(3): 973 - 974. DOI: 10.1152/ajpheart.00443.2005.

[11] Nakai T, Chandy J, Nakai K, *et al*. Histologic assessment of right atrial appendage myocardium in patients with atrial fibrillation after coronary artery bypass graft surgery[J]. Cardiology, 2007, 108(2): 90 - 96. DOI: 10.1159/000095936.

[12] Choi EK, Chang PC, Lee YS, *et al*. Triggered firing and atrial fibrillation in transgenic mice with selective atrial fibrosis induced by overexpression of TGF-beta1[J]. Circ J, 2012, 76(6): 1354 - 1362. DOI: 10.1253/circj.CJ-11-1301.

[13] Yi X, Li XY, Zhou YL, *et al*. Hepatocyte growth factor regulates the TGF-β_1-induced proliferation, differentiation and secretory function of cardiac fibroblasts[J]. Int J Mol Med, 2014, 34(2): 381 - 390. DOI: 10.3892/ijmm.2014.1782.

[14] Ghavami S, Cunnington RH, Gupta S, *et al*. Autophagy is a regulator of TGF-β_1-induced fibrogenesis in primary human atrial myofibroblasts[J]. Cell Death Dis, 2015, 19(6): e1696. DOI: 10.1038/cddis.2015.36.

[15] 张建成, 陈建泉, 许春萱, 等. 肝细胞生长因子和转化生长因子 β1 对人心房肌成纤维细胞纤维化的影响[J]. 中华心血管病杂志, 2012, 40(10): 834 - 839. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3758.2012.10.007.
Zhang JC, Chen JQ, Xu CX, *et al*. Effect of hepatocyte growth factor and transforming growth factor-β1 on atrial fibroblasts fibrosis[J]. Chin J Cardiol, 2012, 40(10): 834 - 839. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3758.2012.10.007.

[16] Lu F, Zhao X, Wu J, *et al*. MSCs transfected with hepatocyte growth factor or vascular endothelial growth factor improve cardiac function in the infarcted porcine heart by increasing angiogenesis and reducing fibrosis[J]. Int J Cardiol, 2013, 167(6): 2524 - 2532. DOI: 10.1016/j.ijcard.2012.06.052.

[17] Okayama K, Azuma J, Dosaka N, *et al*. Hepatocyte growth factor reduces cardiac fibrosis by inhibiting endothelial-mesenchymal transition[J]. Hypertension, 2012, 59(5): 958 - 965. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.183905.

（编辑：吕青远）

·消　息·

《中华老年多器官疾病杂志》征稿、征订启事

《中华老年多器官疾病杂志》是由中国人民解放军总医院主管、解放军总医院老年心血管病研究所主办的医学期刊，为中国科技论文统计源期刊（中国科技核心期刊），创办于 2002 年，月刊。本刊是国内外唯一的一本反映老年多器官疾病的期刊，主要交流老年心血管疾病，尤其是老年心血管疾病合并其他疾病，老年两个以上器官疾病及其他老年多发疾病的诊治经验与发病机制的研究成果。开设的栏目有述评、综述、临床研究、基础研究、临床病理讨论等。

本刊热忱欢迎从事老年病学及其相关领域的专家学者踊跃投稿并订阅杂志，我们真诚期待您的关注和参与。

地址：100853 北京市复兴路 28 号，《中华老年多器官疾病杂志》编辑部

电话：010 - 66936756

网址：www.mode301.cn

E-mail：zhlndqg@mode301.cn