

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2022.12.001  
文章编号: 1005-8982 (2022) 12-0001-07

急性胰腺炎专题·论著

## 抑制线粒体钙单向转运体对大鼠急性胰腺炎氧化应激的作用研究\*

覃颖颖<sup>1</sup>, 杨慧莹<sup>1</sup>, 吴青<sup>2</sup>, 谢金莲<sup>3</sup>, 蒙诺<sup>1</sup>, 雷宇<sup>1</sup>, 唐国都<sup>1</sup>

(1. 广西医科大学第一附属医院 消化内科, 广西南宁 530021; 2. 广西医科大学第二附属医院 消化内科, 广西南宁 530007; 3. 右江民族医学院第一附属医院 心血管内科, 广西百色 533000)

**摘要:** **目的** 探讨抑制线粒体钙单向转运体(MCU)减弱线粒体钙超载对雨蛙肽诱导的大鼠急性胰腺炎(AP)及胰腺氧化应激的影响。**方法** 将32只雄性SD大鼠分为对照组、急性胰腺炎组(AP组)、急性胰腺炎+钌红干预组(AP+RR组)、钌红组(RR组), 每组8只。模型复制24 h后处置大鼠, 检测各组大鼠血清淀粉酶(Amy)、脂肪酶(Lipase)、白细胞介素6(IL-6)水平, HE染色观察胰腺组织病理改变; 倒置荧光显微镜下观察腺泡细胞活性氧(ROS)、线粒体内Ca<sup>2+</sup>、胞内游离Ca<sup>2+</sup>荧光强度; 检测胰腺组织还原型谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)含量; Western blotting检测胰腺组织MCU、沉默信息调节因子3(SIRT3)、MnSOD蛋白的表达; 透射电镜观察腺泡细胞超微结构。**结果** 各组大鼠胰腺HE评分和血清Amy、Lipase、IL-6水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), AP组较对照组高( $P < 0.05$ )。AP组MCU相对表达量, 线粒体内Ca<sup>2+</sup>、胞内游离Ca<sup>2+</sup>浓度高于对照组、RR组( $P < 0.05$ ), AP+RR干预组低于AP组( $P < 0.05$ )。AP组MnSOD、SIRT3、GSH低于对照组( $P < 0.05$ ), ROS、MDA高于对照组( $P < 0.05$ ), 与AP组比较, AP+RR干预组ROS、MDA低于AP组( $P < 0.05$ ), MnSOD、SIRT3、GSH高于AP组( $P < 0.05$ )。**结论** 抑制MCU可减弱腺泡钙超载, 同时可能通过调节SIRT3/MnSOD途径改善雨蛙肽诱导的AP氧化应激, 但对胰腺组织病理学和生化指标无明显改变。

**关键词:** 急性胰腺炎; 线粒体钙单向转运体; 氧化应激; 沉默信息调节因子3

**中图分类号:** R657.51

**文献标识码:** A

## Effects of inhibiting the mitochondrial calcium uniporter on the oxidative stress in rats with acute pancreatitis\*

Ying-ying Qin<sup>1</sup>, Hui-ying Yang<sup>1</sup>, Qing Wu<sup>2</sup>, Jin-lian Xie<sup>3</sup>, Nuo Meng<sup>1</sup>, Yu Lei<sup>1</sup>, Guo-du Tang<sup>1</sup>

(1. Department of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi 530021, China; 2. Department of Gastroenterology, The Second Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi 530007, China; 3. Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise, Guangxi 533000, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the effects of attenuating the mitochondrial calcium overload by inhibiting the mitochondrial calcium uniporter (MCU) on the oxidative stress in rats with acute pancreatitis (AP) induced by caerulein (CAE). **Methods** A total of 32 male SD rats were divided into control group, AP group, AP plus ruthenium red group (AP + RR group) and ruthenium red group (RR group), with 8 cases in each group. The rats were sacrificed 24 hours after establishing the models, and the serum levels of amylase (Amy), lipase and

收稿日期: 2021-11-18

\* 基金项目: 国家自然科学基金(No: 81970558); 国家杰出青年科学基金(No: 2018GXNSFBA281078)

[通信作者] 唐国都, E-mail: tguodu@126.com

interleukin-6 (IL-6) were detected. The histopathological changes of the pancreas were observed by HE staining. The fluorescence intensity of reactive oxygen species (ROS), mitochondrial calcium and cytoplasmic calcium in the acinar cells was observed under the inverted fluorescence microscope. The contents of glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) in the pancreatic tissues were measured. The relative protein expressions of MCU, SIRT3 and MnSOD in the pancreatic tissues were detected by Western blotting. The ultrastructure of acinar cells was observed under the transmission electron microscope. **Results** The HE scores and serum levels of Amy, lipase and IL-6 were different among the groups ( $P < 0.05$ ), and they were higher in the AP group compared with those in the control group ( $P < 0.05$ ). The relative expression of MCU, and the levels of mitochondrial and cytoplasmic calcium were higher in the AP group relative to those in the control group and RR group ( $P < 0.05$ ), while they were lower in the AP + RR group compared with the AP group ( $P < 0.05$ ). The expressions of MnSOD and SIRT3 and the content of GSH were lower ( $P < 0.05$ ), but the fluorescence intensity of ROS and the content of MDA were higher in the AP group compared with the control group ( $P < 0.05$ ). In addition, the fluorescence intensity of ROS and the content of MDA were lower ( $P < 0.05$ ), but the expressions of MnSOD and SIRT3 and the content of GSH were higher in the AP + RR group compared with the AP group ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** The inhibition of MCU could reduce the calcium overload in acinar cells and attenuate the oxidative stress induced by caerulein in AP via regulating the SIRT3 / MnSOD pathway. However, it may not improve the histopathological and biochemical changes of the pancreatic tissues.

**Keywords:** acute pancreatitis; mitochondrial calcium uniporter; oxidative stress; SIRT3

急性胰腺炎 (acute pancreatitis, AP) 是临床急腹症的常见病因, 20% ~ 30% 可进展为重症<sup>[1]</sup>, 且进展凶险, 预后差<sup>[2]</sup>。线粒体钙单向转运体 (mitochondrial calcium uniporter, MCU) 是新近鉴定的位于线粒体内膜的特异性钙离子通道, 具有对钌红 (ruthenium red, RR) 敏感、可顺电化学梯度摄入  $\text{Ca}^{2+}$  等特点<sup>[3]</sup>。胞内持续的钙离子浓度升高可能会导致严重的细胞事件<sup>[4]</sup>, 引起细胞异常的代谢活动, 最终导致细胞死亡<sup>[5-6]</sup>。氧自由基的参与是 AP 发病机制的重要环节, 线粒体钙信号可作为机体氧化信号的调节器<sup>[7]</sup>。强化抗氧化效应时可以改善 AP 的严重程度<sup>[8]</sup>, 沉默信息调节因子 3 (silent information regulator 3, SIRT3) 可通过多种途径抑制机体生成活性氧 (reactive oxygen species, ROS)<sup>[9]</sup>。DONG 等<sup>[10]</sup>研究发现, 线粒体腔内的 ROS 可以作为 MCU 半胱氨酸 97 敏感的信号源, 促进 MCU 高阶低聚物形成, 持续激活 MCU 通道。本研究旨在探讨抑制 MCU、减轻线粒体钙超载对 AP 胰腺病理损伤和氧化应激的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 8 ~ 12 周龄、体重 210 ~ 250 g, 购于广西医科大学实验动物中心, 实

验动物生产许可证号: SCXK (桂) 2020-003, 实验动物使用许可证号: SYXK (桂) 2020-0004。大鼠在 20 ~ 25℃ 空调房内饲养, 通风良好, 鼠笼定期清洁, 自由进食、饮水。根据不同研究方法分为对照组、AP 组、AP+RR 组、RR 组, 每组 8 只。本研究经医院医学伦理委员会批准同意 (No: 2019-KY- 国基-017)。

### 1.2 主要试剂

雨蛙肽 (上海 Amquar 公司), IV 型胶原酶、RR (美国 Sigma 公司), 白细胞介素 6 (Interleukin-6, IL-6) 酶联免疫吸附试验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒 (武汉华美生物科技有限公司), 丙二醛 (Malondialdehyde, MDA)、还原型谷胱甘肽 (Glutathione, GSH) 检测试剂盒 (南京建成生物工程研究所有限公司), DHE 荧光探针 (北京普利莱公司), Fluo-4 AM  $\text{Ca}^{2+}$  (美国 Thermo Fisher 公司)、Rhod-2 AM  $\text{Ca}^{2+}$  荧光探针 (美国 Invitrogen 公司),  $\beta$ -actin、MCU、SIRT3 兔源单克隆抗体、羊抗兔二抗 (美国 CST 公司), MnSOD 抗体 (英国 Abcam 公司)。

### 1.3 主要仪器

红外线扫描仪 (美国 Licor 公司), 显微镜 (日本 Olympus 株式会社), 多功能酶标仪 (美国 Thermo Fisher 公司), 7600-120 型自动生化分析仪 (日本 HITACHI 株式会社), 高速冷冻离心机 (德国 Eppendorf 公司)。

## 1.4 方法

**1.4.1 AP 诱导** 大鼠禁食 12 h, 称体重。对照组大鼠注射 2.5 mg/kg 生理盐水, AP 组大鼠腹腔注射 50  $\mu$ g/kg 雨蛙肽, 每次间隔 1 h, 注射 7 次, 复制 AP 模型; AP+ RR 干预组大鼠腹腔注射 2.5 mg/kg RR, 20 min 后腹腔注射 50  $\mu$ g/kg 雨蛙肽, RR 组大鼠注射等量 2.5 mg/kg RR。

**1.4.2 血清淀粉酶(Amylase, Amy)、脂肪酶(Lipase)活性和 IL-6 表达量测定** 最后 1 次注射雨蛙肽结束开始计时。模型复制 24 h 后于大鼠腹主动脉穿刺取血, 4 $^{\circ}$ C 静置 30 min, 3 500 r/min 离心 10 min, 取适量上清液, 送至广西医科大学第一附属医院检验科检测血清 Amy、Lipase 活性; 采用 ELISA 试剂盒检测血清 IL-6 表达量, 在多功能酶标仪 450 nm 处读取吸光度值。

**1.4.3 胰腺组织病理学评分** 模型复制 24 h 后留取大鼠胰腺组织, 在 4% 多聚甲醛中固定 24 h, 脱水, 石蜡包埋。选取包埋组织 4  $\mu$ m 厚切片, 苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色。显微镜下观察每张样本切片的 5 个视野( $\times 200$ )并评分, 并取平均值, 最终得分是每个病理参数的总和。胰腺组织病理学评分标准<sup>[11]</sup>见表 1。

表 1 胰腺组织病理学评分标准

因素	分值	评分标准
水肿	0分	无
	1分	小叶间隙局限性增宽
	2分	小叶间隙弥漫性增宽
	3分	腺泡破坏和分离
炎症	0分	无
	1分	浸润于管周
	2分	浸润小叶实质面积 < 50%
	3分	浸润小叶实质面积 $\geq$ 50%
坏死	0分	无
	1分	管周实质坏死( $\leq$ 5%) <sup>†</sup>
	2分	局灶性坏死(> 5% ~ $\leq$ 20%) <sup>†</sup>
	3分	弥漫性实质坏死(> 20% ~ $\leq$ 50%) <sup>†</sup>

注: †指每个检查区域所涉及细胞的百分比。

**1.4.4 胰腺腺泡细胞线粒体超微结构观察** 取 2 mm  $\times$  2 mm  $\times$  2 mm 主胰管组织, 戊二醛中避光固定 > 2 h, 固定、脱水、渗透、包埋、切片、染色,

电镜( $\times 2\ 500$ 、 $\times 8\ 000$ )下随机拍摄。

**1.4.5 腺泡细胞的提取及单细胞悬液的制备** 仔细切取主胰管周围胰腺组织, 大小约 2 mm  $\times$  2 mm  $\times$  2 mm, 剪碎, 37 $^{\circ}$ C 环境下与 1 mg/mL IV 型胶原酶孵育 15 ~ 30 min 后终止消化, 用 70  $\mu$ m、40  $\mu$ m 细胞过滤器过滤, 1 000 r/min 离心 5 min, 杜氏磷酸盐缓冲液(D-PBS)洗 2、3 次后重悬。

**1.4.6 腺泡细胞线粒体内 Ca<sup>2+</sup>、细胞内游离 Ca<sup>2+</sup>、ROS 浓度检测** 1 mL 腺泡单细胞悬液分别加入 5  $\mu$ mol/L Rhod-2 AM 和 5  $\mu$ mol/L Fluo-4 AM Ca<sup>2+</sup>探针工作液, 按 2 : 3 体积在 37 $^{\circ}$ C 黑暗中孵育 30 min; 1 mL 腺泡单细胞悬液和 DHE 荧光探针按 1 000 : 1 体积混匀, 37 $^{\circ}$ C 避光孵育 20 min。用 D-PBS 洗 2、3 次后重悬, 吸取 500 ~ 800  $\mu$ L 至 35 mm  $\times$  10 mm 细胞培养皿内, 倒置荧光显微镜下观察线粒体内 Ca<sup>2+</sup>、细胞内游离 Ca<sup>2+</sup>、ROS 浓度, 曝光时间分别为 32 ms、195 ms、32 ms。每个实验重复 3 次。

**1.4.7 胰腺组织 GSH、MDA 含量的测定** 托盘天平称取适量胰腺组织, 胰腺组织与冰生理盐水按重量(g)与体积(mL)1 : 9 混合, 冰浴后充分研磨, 超声裂解 5 s, 制成组织匀浆, 4 000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 按 GSH、MDA 试剂盒说明书测定。

**1.4.8 Western blotting 检测胰腺组织 MCU、MnSOD、SIRT3 蛋白表达** 将蛋白样品与 5 $\times$  上样缓冲液(4:1)混匀, 煮沸 5 ~ 10 min 备用。一抗稀释浓度为 1 : 1 000, 荧光二抗稀释浓度为 1 : 10 000。转膜条件: 150 mA, 1 h。每个实验重复 3 次。

## 1.5 统计学方法

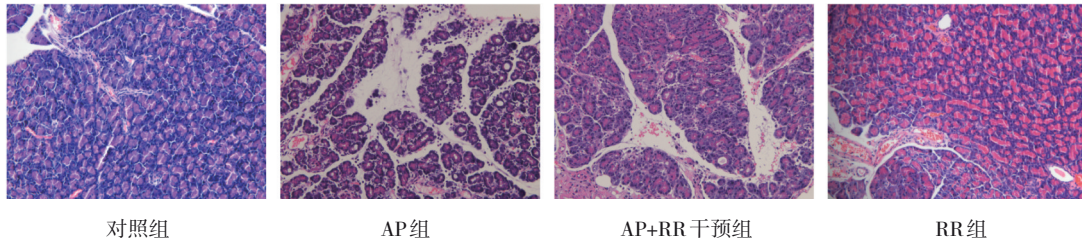
数据分析采用 SPSS 17.0 和 GraphPad Prism 6.0 统计软件。计量资料以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 比较用方差分析, 进一步两两比较用 LSD-*t* 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠胰腺组织病理评分和血清 Amy、Lipase、IL-6 水平比较

各组大鼠胰腺 HE 评分和血清 Amy、Lipase、IL-6 水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义(P < 0.05), AP 组较对照组高(P < 0.05), 对照组与 RR 组比较, 差异无统计学意义(P > 0.05), AP+RR

干预组与 AP 组比较，差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。血清 Amy、Lipase、IL-6 水平和组织学变化



注:对照组、RR 组无明显异常。AP 组大鼠胰腺呈明显水肿,大量炎症细胞浸润,小叶间隙增宽,个别腺泡细胞呈现空泡化,严重时,腺泡细胞与腺泡细胞间有炎症细胞浸润且各自分离,呈孤岛状,但无明显坏死。AP+RR 组水肿仍明显,炎症细胞浸润未见明显减少。

图 1 各组大鼠胰腺组织 HE 染色情况 (× 200)

表 2 各组大鼠胰腺组织病理评分和血清 Amy、Lipase、IL-6 比较 (n=8,  $\bar{x} \pm s$ )

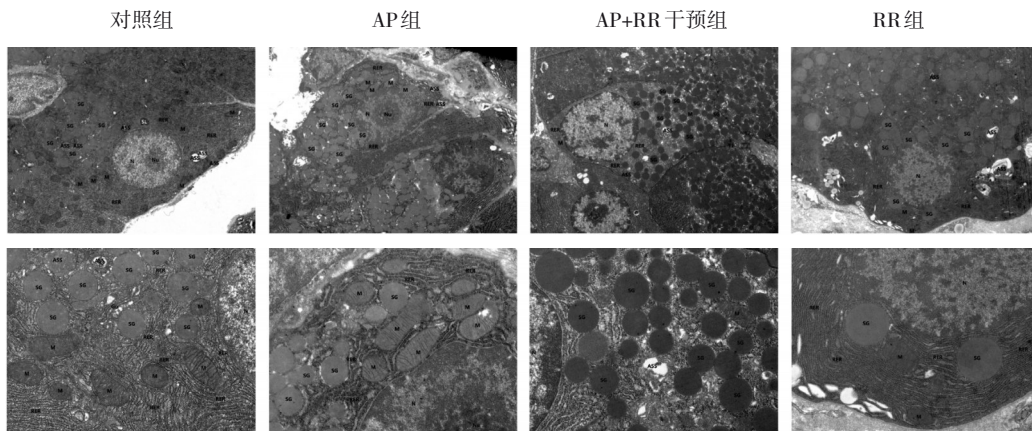
组别	胰腺组织病理学评分	血清 Amy/(u/L)	血清 Lipase/(u/L)	血清 IL-6/(pg/mL)
对照组	0.200 ± 0.283	862.000 ± 223.671	15.371 ± 1.613	8.653 ± 0.478
AP 组	4.150 ± 0.463 <sup>①</sup>	1 442.444 ± 206.201 <sup>①</sup>	18.700 ± 2.246 <sup>①</sup>	10.326 ± 1.238 <sup>①</sup>
AP+RR 干预组	3.750 ± 0.499 <sup>②</sup>	1 405.556 ± 235.323 <sup>②</sup>	18.180 ± 2.459 <sup>②</sup>	9.724 ± 0.341 <sup>②</sup>
RR 组	0.325 ± 0.545 <sup>③</sup>	1 058.000 ± 86.226 <sup>③</sup>	16.171 ± 1.341 <sup>③</sup>	8.668 ± 0.328 <sup>③</sup>
F 值	173.932	15.571	4.752	11.909
P 值	0.000	0.000	0.010	0.000

注:①与对照组比较, $P < 0.05$ ;②与 AP 组比较, $P > 0.05$ ;③与对照组比较, $P > 0.05$ 。

### 2.2 各组大鼠胰腺腺泡细胞超微结构

对照组、RR 组腺泡细胞整体结构尚可。AP 组腺泡细胞中度水肿,胞内局部电子密度减低,部分细胞器空泡变。细胞核呈不规则形,局部凹陷严重,异染色质边集,提示细胞凋亡,核仁较大;线粒体中度肿胀、基质变淡、嵴断裂、减少,少

量严重者膜破损、基质外溢。AP+RR 组上述变化较 AP 组减轻,腺泡细胞轻微水肿,细胞核偶见异染色质边集,核膜完整;线粒体轻微肿胀,形状、大小尚可,外膜模糊,嵴存在;余细胞器结构尚可。见图 2。



M: 线粒体;RER: 粗面内质网;Go: 高尔基体;N: 细胞核;Nu: 核仁;SG: 酶原颗粒;SL: 次级溶酶体;ASS: 自噬溶酶体。

图 2 各组大鼠胰腺腺泡细胞超微结构的变化 (× 8000)

### 2.3 各组大鼠 MCU 相对表达量, 线粒体内 Ca<sup>2+</sup>、胞内游离 Ca<sup>2+</sup> 浓度比较

各组大鼠 MCU 相对表达量, 线粒体内 Ca<sup>2+</sup>、胞内游离 Ca<sup>2+</sup> 浓度比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), AP 组高于对照组、RR 组 ( $P < 0.05$ ), AP+RR 干预组低于 AP 组 ( $P < 0.05$ )。

见图 3 ~ 5 和表 3。

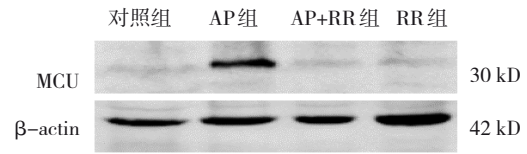


图 3 各组大鼠胰腺组织 MCU 蛋白的表达

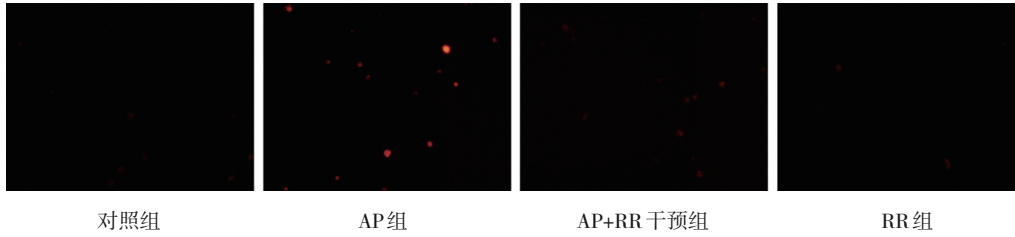


图 4 各组大鼠胰腺腺泡细胞线粒体内 Ca<sup>2+</sup> 荧光强度变化 (× 200)

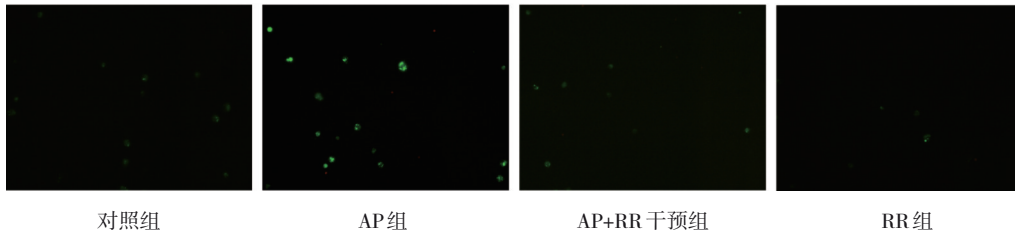


图 5 各组大鼠腺泡细胞内游离 Ca<sup>2+</sup> 荧光强度变化 (× 200)

表 3 各组大鼠 MCU 相对表达量, 线粒体内 Ca<sup>2+</sup>、胞内游离 Ca<sup>2+</sup> 浓度比较 (n=8,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	MCU	线粒体内 Ca <sup>2+</sup>	胞内游离 Ca <sup>2+</sup>
对照组	0.373 ± 0.108	1.657 ± 0.010	1.719 ± 0.011
AP 组	0.990 ± 0.113 <sup>①</sup>	1.951 ± 0.019 <sup>①</sup>	1.864 ± 0.131 <sup>①</sup>
AP+RR 干预组	0.354 ± 0.100 <sup>②</sup>	1.669 ± 0.018 <sup>②</sup>	1.700 ± 0.052 <sup>②</sup>
RR 组	0.356 ± 0.0879 <sup>③</sup>	1.659 ± 0.003 <sup>③</sup>	1.724 ± 0.008 <sup>③</sup>
F 值	28.251	331.314	3.419
P 值	0.000	0.000	0.043

注: ①与对照组比较,  $P < 0.05$ ; ②与 AP 组比较,  $P < 0.05$ ; ③与对照组比较,  $P > 0.05$ 。

### 2.4 各组大鼠胰腺组织 MnSOD、SIRT3 表达量, GSH、MDA 含量和 ROS 荧光强度比较

各组大鼠胰腺组织 MnSOD、SIRT3 表达量, GSH、MDA 含量和 ROS 荧光强度比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), AP 组 MnSOD、SIRT3、GSH 低于对照组 ( $P < 0.05$ ), ROS、MDA 高于对照组 ( $P < 0.05$ ), AP+RR 干预组 ROS、MDA 低于 AP 组 ( $P < 0.05$ ), MnSOD、SIRT3、GSH 高于 AP 组 ( $P < 0.05$ )。见表 4 和图 6 ~ 7。

表 4 各组大鼠胰腺组织 MnSOD、SIRT3 表达量, GSH、MDA 含量和 ROS 荧光强度比较 (n=8,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	MnSOD	SIRT3	ROS	GSH/(μmol/g)	MDA/(nmol/mg)
对照组	2.031 ± 0.453	0.565 ± 0.170	1.709 ± 0.013	133.409 ± 24.631	2.162 ± 0.608
AP 组	0.912 ± 0.123 <sup>①</sup>	0.272 ± 0.078 <sup>①</sup>	1.810 ± 0.001 <sup>①</sup>	79.768 ± 17.762 <sup>①</sup>	4.023 ± 0.651 <sup>①</sup>
AP+RR 干预组	1.844 ± 0.383 <sup>②</sup>	0.475 ± 0.117 <sup>②</sup>	1.704 ± 0.011 <sup>②</sup>	114.165 ± 22.680 <sup>②</sup>	2.548 ± 0.453 <sup>②</sup>
RR 组	1.946 ± 0.462 <sup>③</sup>	0.562 ± 0.176 <sup>③</sup>	1.719 ± 0.009 <sup>③</sup>	132.007 ± 45.283 <sup>③</sup>	2.181 ± 0.464 <sup>③</sup>
F 值	5.582	2.856	82.071	4.862	30.035
P 值	0.023	0.015	0.000	0.009	0.000

注: ①与对照组比较,  $P < 0.05$ ; ②与 AP 组比较,  $P < 0.05$ ; ③与对照组比较,  $P > 0.05$ 。

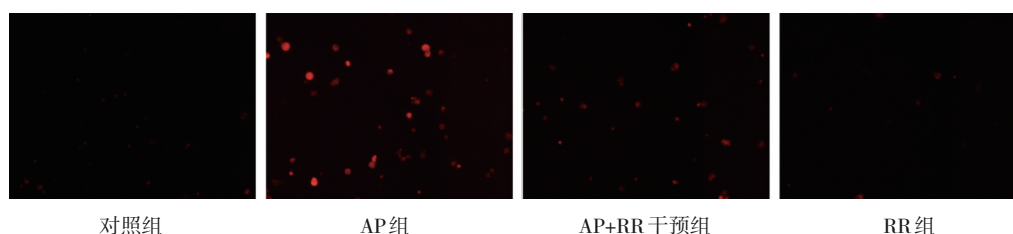


图6 各组大鼠腺泡细胞ROS荧光强度变化 (×200)

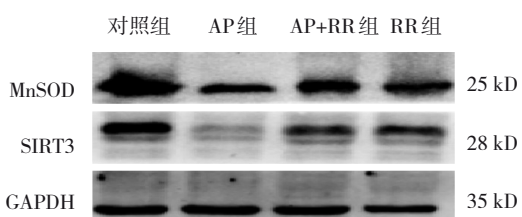


图7 各组大鼠胰腺组织MnSOD、SIRT3蛋白的表达

### 3 讨论

MCU参与了多项生物学作用,其中在神经系统、心血管系统和肿瘤性疾病研究较多<sup>[12-15]</sup>。MCU通过Calpain/OPA-1等通路,影响线粒体通透性转换及稳态和线粒体分裂/融合的平衡,促进细胞凋亡,参与小鼠模型心肌缺血再灌注损伤和创伤性脑损伤<sup>[16-18]</sup>; MCU上调线粒体Ca<sup>2+</sup>摄取,通过抑制NAD<sup>+</sup>/SIRT3/SOD2通路和ROS激活的c-jun氨基末端激酶途径,促进基质金属蛋白酶-2的活性<sup>[19]</sup>。激活ROS/NF-κB信号,抑制转录因子A-线粒体磷酸化促进线粒体的生物发生<sup>[20]</sup>,促进肿瘤细胞的转移和体内外生长。线粒体是经MCU运输的钙离子的接收器,线粒体钙离子信号异常会导致线粒体形态完整性发生变化。AP起病过程中,腺泡细胞钙离子内流和氧化应激反应增强,线粒体形态以及结构的异常。而应用MCU的抑制剂RR后,可观察到腺泡细胞超微结构损害减轻,钙内流减弱,抗氧化效应增强。这为AP钙超载、线粒体损伤、氧化应激提供了生化指标和形态学证据。

Western blotting和荧光探针结果表明,在雨蛙肽诱导的AP大鼠中,MCU介导的氧化应激损伤导致氧化指标ROS和MDA水平上升,氧化保护因子MnSOD、GSH水平下降。有趣的是,SIRT3在MCU介导的氧化应激损伤中也呈低表达,而当MCU的作用被RR抑制后,氧化应激水平下降,SIRT3的蛋白表达水平上升,这提示SIRT3可能是AP氧化应激损伤的保护因素,MCU的激活可能抑制了SIRT3介导的

相关通路,诱发氧化应激。MCU的活化可以抑制肝癌细胞中的NAD<sup>+</sup>/SIRT3/SOD2通路,促进肝癌细胞产生ROS,增强肝癌细胞的体外侵袭和迁移能力<sup>[17]</sup>,表明SIRT3的活化可能抑制MCU介导的ROS水平,从而抑制氧化应激的发生、发展,与本研究结果相符。SIRT3可能是治疗AP氧化应激损伤的关键靶点。

不幸的是,抑制MCU无法改善AP的病理严重程度。这一结果与CHVANOV等<sup>[21]</sup>结果是一致的。研究表明,线粒体钙超载并不是AP诱导剂引起的唯一损伤效应,其可能仅参与腺泡细胞损伤和AP启动的部分过程。即使是在MCU/CYD-D双基因敲除小鼠中,MCU基因完全缺失,实验动物的脑线粒体仍能摄取Ca<sup>2+</sup><sup>[17]</sup>。DIA等<sup>[22]</sup>发现,16周的高脂肪高蔗糖(high-fat high-sucrose diet, HFHSD)喂养的小鼠出现胰岛素抵抗、糖尿病心肌病,在HFHSD心肌细胞中观察到IP3R/Gp75/VDAC钙通道复合体减少,IP3刺激钙向线粒体的转运减少,但是MCU及其调节亚基MICU1并未参与到线粒体钙离子紊乱这一过程中, HFHSD心肌细胞线粒体钙摄取减少主要是由于网状-线粒体功能性钙耦联减少所致。本研究发现抑制MCU可能通过SIRT3/MnSOD通路来抑制早期胰腺炎的氧化应激反应,但同样也显示了RR并不能显著改善胰腺炎的病理严重程度。MCU在AP的发生、发展过程中的作用可能属于“微效”蛋白。然而在临床中,即使是轻症胰腺炎患者的恢复时间也需要1周以上,AP的临床治疗过程则更加漫长。有研究指出,在内皮细胞功能障碍中,高糖诱导的MCU相关的钙超载、凋亡和ROS损伤的表现呈剂量和时间依赖性<sup>[23]</sup>,RR在AP的治疗后期仍有巨大的潜在价值。

### 参 考 文 献 :

- [1] TRIKUDANATHAN G, WOLBRINK D R J, van SANTVOORT H C, et al. Current concepts in severe acute and necrotizing

- pancreatitis: an evidence-based approach[J]. *Gastroenterology*, 2019, 156(7): 1994-2007.e3.
- [2] GARG P K, SINGH V P. Organ failure due to systemic injury in acute pancreatitis[J]. *Gastroenterology*, 2019, 156(7): 2008-2023.
- [3] de STEFANI D, RAFFAELLO A, TEARDO E, et al. A forty-kilodalton protein of the inner membrane is the mitochondrial calcium uniporter[J]. *Nature*, 2011, 476(7360): 336-340.
- [4] SALUJA A, DUDEJA V, DAWRA R, et al. Early intra-acinar events in pathogenesis of pancreatitis[J]. *Gastroenterology*, 2019, 156(7): 1979-1993.
- [5] FENG S, WEI Q, HU Q, et al. Research progress on the relationship between acute pancreatitis and calcium overload in acinar cells[J]. *Digestive diseases and sciences*, 2019, 64(1): 25-38.
- [6] 洪育蒲, 余佳, 石乔, 等. 急性胰腺炎腺泡细胞损伤机制研究进展[J]. *中国普通外科杂志*, 2019, 28(12): 1541-1546.
- [7] O-UCHI J, RYU S Y, JHUN B S, et al. Mitochondrial ion channels/transporters as sensors and regulators of cellular redox signaling[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2014, 21(6): 987-1006.
- [8] RAHMAN S H, IBRAHIM K, LARVIN M, et al. Association of antioxidant enzyme gene polymorphisms and glutathione status with severe acute pancreatitis[J]. *Gastroenterology*, 2004, 126(5): 1312-1322.
- [9] KATWAL G, BARAL D, FAN X L, et al. SIRT3 a major player in attenuation of hepatic ischemia-reperfusion injury by reducing ROS via its downstream mediators: SOD2, CYP-D, and HIF-1  $\alpha$ [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018: 2976957.
- [10] DONG Z W, SHANMUGHAPRIYA S, TOMAR D, et al. Mitochondrial Ca<sup>2+</sup> uniporter is a mitochondrial luminal redox sensor that augments MCU channel activity[J]. *Mol Cell*, 2017, 65(6): 1014-1028.e7.
- [11] van LAETHEM J L, MARCHANT A, DELVAUX A, et al. Interleukin 10 prevents necrosis in murine experimental acute pancreatitis[J]. *Gastroenterology*, 1995, 108(6): 1917-1922.
- [12] 谢南昌, 余梦嫣, 王翠, 等. 线粒体钙单向转运体在 $\beta$ 淀粉样蛋白诱导小胶质细胞凋亡中的作用机制[J]. *中风与神经疾病杂志*, 2019, 36(2): 99-103.
- [13] 王晶, 张珍, 曹雅男, 等. 线粒体钙单向转运体在小鼠心肌肥厚损伤中的作用[J]. *重庆医学*, 2019, 48(16): 2714-2717.
- [14] 王潇飞, 程光, 马艳君, 等. 胃癌中MCU的表达及对胃癌细胞转移的作用[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2020, 36(2): 137-142.
- [15] 郑文学, 荆哲, 郭文响, 等. MCU在高糖诱导心肌H9c2细胞凋亡中的作用机制[J]. *中国病理生理杂志*, 2020, 36(3): 433-438.
- [16] GUAN L C, CHE Z M, MENG X D, et al. MCU up-regulation contributes to myocardial ischemia-reperfusion injury through calpain/OPA-1-mediated mitochondrial fusion/mitophagy inhibition[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(11): 7830-7843.
- [17] HAMILTON J, BRUSTOVETSKY T, BRUSTOVETSKY N. The effect of mitochondrial calcium uniporter and cyclophilin D knockout on resistance of brain mitochondria to Ca<sup>2+</sup>-induced damage[J]. *J Biol Chem*, 2021, 296: 100669.
- [18] 虞乐, 张焕, 姚伟娟. 线粒体钙单向转运体复合物与缺血/再灌注损伤[J]. *中国病理生理杂志*, 2022, 38(1): 139-143.
- [19] REN T, ZHANG H, WANG J, et al. MCU-dependent mitochondrial Ca<sup>2+</sup> inhibits NAD<sup>+</sup>/SIRT3/SOD2 pathway to promote ROS production and metastasis of HCC cells[J]. *Oncogene*, 2017, 36(42): 5897-5909.
- [20] LIU Y, JIN M P, WANG Y Y, et al. MCU-induced mitochondrial calcium uptake promotes mitochondrial biogenesis and colorectal cancer growth[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 59.
- [21] CHVANOV M, VORONINA S, ZHANG X Y, et al. Knockout of the mitochondrial calcium uniporter strongly suppresses stimulus-metabolism coupling in pancreatic acinar cells but does not reduce severity of experimental acute pancreatitis[J]. *Cells*, 2020, 9(6): 1407.
- [22] DIA M, GOMEZ L, THIBAUT H, et al. Reduced reticulum - mitochondria Ca<sup>2+</sup> transfer is an early and reversible trigger of mitochondrial dysfunctions in diabetic cardiomyopathy[J]. *Basic Res Cardiol*, 2020, 115(6): 74.
- [23] CHEN W, YANG J, CHEN S H, et al. Importance of mitochondrial calcium uniporter in high glucose-induced endothelial cell dysfunction[J]. *Diab Vasc Dis Res*, 2017, 14(6): 494-501.

(李科 编辑)

本文引用格式: 覃颖颖, 杨慧莹, 吴青, 等. 抑制线粒体钙单向转运体对大鼠急性胰腺炎氧化应激的作用研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2022, 32(12): 1-7.

Cite this article as: QIN Y Y, YANG H Y, WU Q, et al. Effects of inhibiting the mitochondrial calcium uniporter on the oxidative stress in rats with acute pancreatitis[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2022, 32(12): 1-7.