

过劳不同时间对小鼠心肌细胞焦亡的影响

马雪¹, 廖阅¹, 邓三春¹, 傅巍¹, 蒋尚¹, 李玉兰^{1,2*}¹兰州大学第一临床医学院, 甘肃兰州 730000; ²兰州大学第一医院麻醉手术科, 甘肃兰州 730000

[中图分类号] R541.9 [文献标志码] A [DOI] 10.11855/j.issn.0577-7402.2025.0127

[声明] 本文所有作者声明无利益冲突

[引用本文] 马雪, 廖阅, 邓三春, 等. 过劳不同时间对小鼠心肌细胞焦亡的影响[J]. 解放军医学杂志, 2025, 50(6): 756-761.

[收稿日期] 2024-05-24

[录用日期] 2024-09-08

[上线日期] 2025-01-27

[摘要] 目的 探讨过劳不同时间对小鼠心肌细胞焦亡的影响。方法 SPF级KM小鼠24只, 采用随机数字表法分为对照组、过劳2周组(W2组)、过劳4周组(W4组)及过劳6周组(W6组), 每组6只。对照组不做特殊处理, W2组、W4组、W6组每日强迫水中站立8h+束缚3h, 分别持续2、4、6周。观察小鼠一般状况, 每周记录体重变化; 造模结束后取血并留取心脏, 采用HE染色观察心肌组织病理学变化, 免疫组化染色检测心肌组织中消皮素D(GSDMD)蛋白的定位, Western blotting检测心肌组织中焦亡相关蛋白[NOD样蛋白受体3(NLRP3)、胱天蛋白酶1(Caspase-1)、GSDMD]的表达量, ELISA法检测血清及心肌组织中白细胞介素(IL)-1 β 、IL-18含量。结果 (1)对照组小鼠体重在2周内稳定增加; W2组2周内体重无明显变化, W4组、W6组第2~6周的体重均高于基础值; 与对照组比较, W2组、W4组、W6组第1、2周的体重明显降低, 差异有统计学意义($P<0.05$)。W2组、W4组、W6组小鼠活跃度先增高后下降, 全身毛发出现灰暗、脱落现象, 精神状态变差。(2)对照组心肌细胞排列整齐, 细胞核形态正常; 与对照组比较, W2组心肌细胞排列较规则, 毛细血管充血增加; W4组心肌中血管充血明显增加, 细胞间质增生, 细胞核周围出现空泡化; W6组心肌间质疏松, 脂肪浸润增加, 细胞核周围空泡化增多, 心肌纤维肿胀, 排列紊乱。(3)GSDMD主要定位于心肌细胞质中; 与对照组比较, W2组、W4组、W6组NLRP3、Caspase-1和GSDMD蛋白表达量明显增加, 且W6组>W4组>W2组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。(4)与对照组比较, W2组、W4组、W6组血清及心肌组织中IL-1 β 含量明显增加, 血清中W6组>W4组和W2组, 心肌组织中W6组和W4组>W2组, 差异有统计学意义($P<0.05$), 而血清中W2组与W4组、心肌组织中W4组与W6组IL-1 β 含量差异无统计学意义($P>0.05$); 与对照组比较, W4组、W6组血清及心肌组织中IL-18含量明显增加($P<0.05$); 血清中W6组和W4组IL-18含量>W2组, 心肌组织中W6组>W4组和W2组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 过劳可引起小鼠心肌组织结构破坏, 焦亡蛋白NLRP3、Caspase-1、GSDMD表达量增加, 过劳小鼠心肌炎症反应加剧。心肌细胞焦亡可能是过劳诱发心源性猝死的因素之一。

[关键词] 过劳; 细胞焦亡; NOD样蛋白受体3; 心脏; 消皮素D

Effects of varying durations of overwork on cardiomyocyte pyroptosis of mice

Ma Xue¹, Liao Yue¹, Deng San-Chun¹, Fu Wei¹, Jiang Shang¹, Li Yu-Lan^{1,2*}¹The First Clinical Medical College of Lanzhou University, Lanzhou, Gansu 730000, China²Department of Anesthesiology, the First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou, Gansu 730000, China

*Corresponding author, E-mail: jasm@sina.com

This work was supported by the Health Industry Research Project of Gansu Province (GSWSKY2021-079)

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of varying durations of overwork on cardiomyocyte pyroptosis in mice. **Methods** A total of 24 SPF KM mice were randomly divided into four groups ($n=6$) using a random number table: control group, 2-week overwork (W2) group, 4-week overwork (W4) group, and 6-week overwork (W6) group. Mice in control group were normally raised, while those in W2, W4, and W6 groups were forced to stand in water for 8 h and then restrained for 3 h daily for 2, 4, 6 weeks, respectively. The general condition and weekly weight changes of the mice were observed. After modeling, blood samples were

[基金项目] 甘肃省卫生健康行业科研项目(GSWSKY2021-079)

[作者简介] 马雪, 硕士研究生, 主要从事器官保护方面的研究

[通信作者] 李玉兰, E-mail: jasm@sina.com

collected, and hearts were excised. Myocardial histopathological changes were assessed using hematoxylin and eosin (HE) staining. The localization of gasdermin D (GSDMD) protein in myocardial tissue was detected through immunohistochemical staining, and the expression levels of pyroptosis-related proteins [NOD-like protein receptor 3 (NLRP3), Caspase-1, GSDMD] in myocardial tissue were analyzed using Western blotting. The contents of interleukin-1 β (IL-1 β) and interleukin-18 (IL-18) in serum and myocardial tissues were measured using ELISA. **Results** (1) The weight of control group mice increased steadily within 2 weeks. In W2 group, there was no significant weight change within 2 weeks, while in W4 and W6 groups, the body weights were higher than their initial values from the 2nd to 6th week. Compared with control group, the body weights of W2, W4, and W6 groups were lower than those of control group in the 1st and 2nd week, with statistically significant differences ($P<0.05$). The activity levels of the mice in W2, W4, and W6 groups initially increased and then decreased, with their fur becoming dull and falling out, and their mental state deteriorating. (2) In control group, cardiomyocytes were neatly arranged, and the nuclear morphology was normal. Compared with control group, in W2 group, cardiomyocyte arrangement was less regular, and capillary congestion was increased. In W4 group, the vascular congestion in the myocardium was significantly increased, the interstitial tissue was hyperplastic, and vacuolization appeared around the nuclei. In W6 group, the myocardial interstitium was loose, fat infiltration was increased, vacuolization around the nuclei was increased, and myocardial fibers were swollen, and the arrangement was disordered. (3) GSDMD was mainly located in the cytoplasm of cardiomyocytes. Compared with control group, the expression levels of NLRP3, Caspase-1, and GSDMD proteins in W2, W4, and W6 groups were significantly increased, and the expression levels were in the order of W6 group > W4 group > W2 group, with significant differences ($P<0.05$). (4) Compared to control group, the levels of IL-1 β in serum and myocardial tissues of W2, W4, and W6 groups were significantly increased. In serum, the level of IL-1 β in W6 group was higher than those in W2 and W4 groups, and in myocardial tissue, the levels in W4 and W6 groups were higher than those in the W2 group, with significant differences ($P<0.05$). There were no significant differences in IL-1 β levels in serum among W2 and W4 groups, nor were there significant differences in myocardial tissue between W4 and W6 groups ($P>0.05$). Compared with control group, the levels of IL-18 in serum and myocardial tissue of W4 and W6 groups were significantly increased ($P<0.05$). In serum, the levels of IL-18 in W4 and W6 groups were higher than that in W2 group, and in myocardial tissue, the level in W6 group was higher than those in W2 and W4 groups, with the differences being statistically significant ($P<0.05$). **Conclusions** Overwork can cause structural damage to mouse myocardial tissue, increase the expression of pyroptosis proteins NLRP3, Caspase-1, GSDMD, and aggravate myocardial inflammatory responses in overworked mice. Cardiomyocyte pyroptosis may be one of the factors contributing to sudden cardiac death induced by overwork.

[Key words] overwork; pyroptosis; NOD like protein receptor 3; heart; gasdermin D

过劳(overwork)在当代社会中具有一定普遍性, 各行各业的劳动者多饱受精神压力与体力透支的困扰。虽然不同职业过劳成因不同, 但超时、超强度、超压力是共性的^[1]。世界卫生组织的报告显示, 2016年全球约4.88亿人在长时间工作, 占全球总人数的8.9%^[2]。与工作35~40h/周的人群相比, 长时间工作(≥ 55 h/周)的人群卒中风险增加35%, 死于缺血性心脏病的风险增加17%^[2]。研究证实, 长时间工作是心血管疾病、卒中、糖尿病等发病的潜在原因^[3-6], 然而过劳诱发或加剧心血管疾病的机制尚不清楚。既往研究发现, 过劳可加速人体血栓反应^[7], 使血栓形成时间缩短、溶解时间延长, 值班或过度劳累条件下皮质醇水平明显升高。2017年Kivimäki等^[8]的队列研究发现, 长时间工作的人群较标准时间工作的人群更易发生心室颤动; Xiao等^[9]发现, 过劳大鼠心肌细胞中小窝蛋白-1表达下调, 致使连接蛋白43(connexin 43, Cx43)水平降低, 而Cx43水平降低可能是致心律失常性心肌病发病的基础。目前的研究发现, 过劳可诱发机体全身性炎症反应, 且与多种心血管疾病相关^[10], 而炎症在动脉硬化、动脉瘤等心血管疾病的进程中起着重要作用, 另外,

细胞过度焦亡对心血管疾病发生发展的促进作用已被广泛报道^[11]。因此推测, 心肌细胞焦亡可能在过劳继发的炎症中发挥了重要作用, 是过劳诱发心血管疾病发作或加重甚至心源性猝死的原因之一。本研究拟建立小鼠过劳模型, 分析过劳对小鼠心肌细胞焦亡的影响, 旨在为探索过劳引起心血管病变的可能机制提供参考。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及仪器 HE染色试剂盒、DAB显色试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司); 兔抗NOD样蛋白受体3(NOD-like protein receptor 3, NLRP3)、 β -actin抗体(美国Immunoway公司); 胱天蛋白酶1(Caspase-1)、消皮素D(gasdermin D, GSDMD)抗体及BCA蛋白浓度测定试剂盒(沈阳万类生物科技有限公司); 10% PAGE彩色凝胶超快速配制试剂盒、超敏ECL化学发光试剂盒(武汉赛维尔生物科技有限公司); PVDF膜(Immobilon IPVH00010)、小鼠白细胞介素(interleukin, IL)-1 β ELISA试剂盒、小鼠IL-18 ELISA试剂盒(江苏酶免实业有限公司)。全封闭组织脱水机(Histocore Pearl)、切片机(Leica RM2245/

RM2235; 德国Leica公司); 组织包埋机(KD-BM/BL, 浙江金华科迪仪器设备有限公司); 数字切片扫描系统(3DHISTECH/Pannoramic DESK; 匈牙利3DHISTECH公司); 组织冷冻研磨仪(JXFSPRP-CLN-48, 上海净信实业发展有限公司); 多功能酶标仪(Synergy NEO2, 美国安捷伦公司); 垂直电泳转印系统(Mini-PROTEAN Tetra Cell+PowerPac Basic+Trans-Blot SD, 美国Bio-Rad公司); 化学发光成像系统(FUSION SOLO6S.EDGE, 法国VILBER公司)

1.2 实验动物及分组 SPF级健康雄性KM小鼠24只, 4~6周龄, 初始体重20~25 g, 由兰州大学实验动物中心提供[实验动物生产许可证号: SCXK(甘)2023-0003]。采用随机数字表法分为对照组、过劳2周组(W2组)、过劳4周组(W4组)及过劳6周组(W6组), 每组6只。实验前小鼠适应性喂养2周, 饲养环境为室温(24±1)℃、湿度45%±10%, 通风流畅, 无噪音。本研究经兰州大学第一医院实验动物福利和伦理管理委员会批准(LDYILL2024-352)。

1.3 过劳小鼠模型的建立 使用6~8周龄小鼠建立过劳模型, 每日早9:00将W2组、W4组和W6组小鼠分别放入加水的饲养盒中8 h, 强迫其站立于水中, 水深(1.0±0.2) cm, 水温(25±1)℃, 站立期间不限制食水摄入; 8 h后将小鼠装进专用束缚筒中束缚3 h, 结束后放回笼中, 恢复正常活动及饮食。W2组、W4组和W6组分别持续2、4、6周。对照组正常饲养, 不做特殊处理。每天造模前测量每只小鼠的体重并观察小鼠精神状况及毛发等一般情况。

1.4 标本获取 造模结束后使用丙泊酚麻醉小鼠后眼球取血, 然后打开胸腔, 取出心脏。小鼠全血于4℃冰箱静置1 h后离心, 收集上清液, 于-80℃保存备用。小鼠心脏组织使用PBS清洗后用滤纸吸干水分, 取1/2于组织固定液中固定, 常温保存, 另1/2于-80℃保存备用。

1.5 HE染色观察心肌组织病理学变化 取固定的心肌组织, 脱水、石蜡包埋后切成4 μm厚的切片; 二甲苯脱蜡、梯度乙醇水化后, 置于苏木精溶液中6 min, 自来水冲洗, 盐酸乙酸液分化、淡氨水返蓝各数秒; 置于95%乙醇溶液中1 min, 伊红溶液中5 min, 梯度乙醇脱水、二甲苯透明, 最后使用中性树脂封片, 自然晾干后于显微镜下拍照, 采集图片进行分析。

1.6 免疫组化染色检测GSDMD蛋白的表达 心脏组织蜡块以3 μm厚连续切片, 60℃烤片4 h, 全自动脱蜡、水化, 高压热修复法加热3 min, 复温后过氧化氢溶液孵育10 min, 封闭液封闭20 min, 滴加兔抗GSDMD一抗(1:200)并于湿盒中4℃孵育过夜, 滴加二抗37℃温育30 min, DAB显色后苏木精复染、

氨水返蓝、冰乙酸分化, 脱水、透明后封片, 显微镜下观察, 选取典型视野进行拍照分析。

1.7 Western blotting检测心肌焦亡相关蛋白(NLRP3、Caspase-1、GSDMD)的表达 提取心脏组织全蛋白, BCA法测定蛋白含量, 将蛋白样本与上样缓冲液混合后煮沸10 min, 4℃保存备用。配制10%凝胶, 取等量蛋白上样, 80 V电泳30 min, 目标蛋白跑至分离胶时, 120 V电泳至目标蛋白条带分开, 恒流0.2 A转膜2 h。取PVDF膜置于封闭液中封闭2 h, 洗膜、裁剪目的条带, 加入兔抗NLRP3(1:2000)、Caspase-1(1:1000)、GSDMD(1:1000)、β-actin(1:3000)抗体4℃孵育过夜。TBST洗膜后加入HRP标记山羊抗兔IgG二抗(1:6000)室温轻摇孵育1 h, TBST洗膜。滴加发光液, 置于化学发光仪中曝光, 采用ImageJ软件进行灰度值分析, GraphPad软件制图。

1.8 ELISA法检测心脏组织及血清中IL-1β、IL-18含量 称取0.1 g心脏组织, 将组织匀浆、离心后收集上清; 根据试剂盒要求稀释标准孔, 加样(标准品及样本)50 μl, 37℃温育30 min; 洗涤后加入酶标试剂温育30 min, 重复洗涤; 依次加入显色液A、B, 混匀后37℃避光显色10 min; 加入终止液, 测定450 nm波长处各孔吸光度(OD)值, 根据标准曲线计算各组心脏组织中IL-1β、IL-18含量。取小鼠全血上清, 按照上述方法检测各组血清中IL-1β、IL-18含量。

1.9 统计学处理 采用SPSS 26.0软件进行统计分析, GraphPad Prism 8.0软件制图。对计量资料进行正态性检验, 符合正态分布者以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用Bonferroni法; 不符合正态分布者以 $M(Q_1, Q_3)$ 表示, 多组间比较采用Kruskal-Wallis秩和检验。实验独立重复3次。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠一般情况及体重比较 与对照组比较, W2组、W4组、W6组小鼠在第1周时活跃度先增高后降低, 全身毛发出现灰暗、脱落现象, 精神状态变差。对照组小鼠体重在2周内稳定增加, 在第1、2周时均高于基础值; W2组第1、2周的体重与基础值比较差异无统计学意义($P>0.05$), 第2周时体重高于第1周, W4组、W6组第2~6周的体重均高于基础值($P<0.05$)。W2组、W4组、W6组第1、2周的体重较对照组明显降低, 差异有统计学意义($P<0.05$) (表1)。

2.2 各组小鼠心肌组织病理学变化 HE染色结果显示, 对照组心肌细胞排列整齐, 细胞核形态正常; 与对照组比较, W2组心肌细胞排列较为规则, 毛细

表1 各组小鼠体重随造模时间变化情况(g, $\bar{x}\pm s$, n=6)

Tab.1 The body weight of mice in each group varied over the duration of the modeling period (g, $\bar{x}\pm s$, n=6)

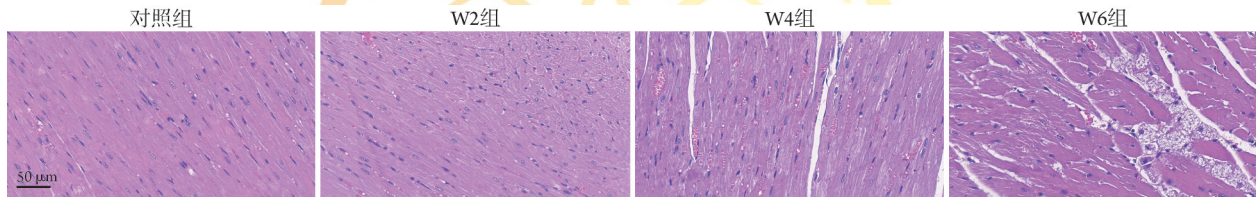
组别	基础值(0d)	第1周	第2周	第3周	第4周	第5周	第6周
对照组	30.64±1.33	35.71±0.90 ⁽¹⁾	37.56±0.55 ⁽¹⁾⁽³⁾	-	-	-	-
W2组	29.80±1.36	28.26±1.12 ⁽²⁾	31.47±1.69 ⁽²⁾⁽³⁾	-	-	-	-
W4组	29.82±1.70	30.18±1.92 ⁽²⁾	32.50±2.45 ⁽¹⁾⁽²⁾	35.18±1.98 ⁽¹⁾⁽⁴⁾	36.00±2.17 ⁽¹⁾	-	-
W6组	29.78±1.52	30.00±1.72 ⁽²⁾	33.25±2.53 ⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾	35.73±1.68 ⁽¹⁾⁽⁴⁾	37.00±2.36 ⁽¹⁾	38.35±1.51 ⁽¹⁾	39.35±1.56 ⁽¹⁾

“-”示无数据; W2组.过劳2周组; W4组.过劳4周组; W6组.过劳6周组; 与基础值比较, (1) $P<0.05$; 与对照组比较, (2) $P<0.05$; 与第1周比较, (3) $P<0.05$; 与第2周比较, (4) $P<0.05$

血管充血增加; W4组心肌组织中血管充血明显增加, 细胞间质增生, 细胞核周围出现空泡化; W6组心肌组织中心肌间质疏松, 脂肪浸润增加, 细胞核周围空泡化增多, 心肌纤维肿胀, 排列紊乱(图1)。

2.3 各组小鼠心肌组织中心肌焦亡相关蛋白表达情

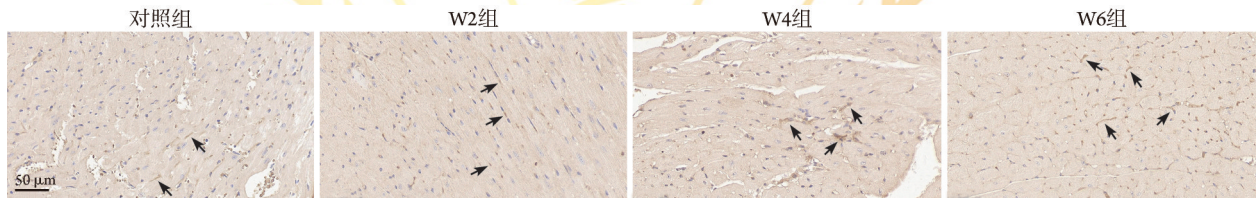
况比较 免疫组化染色结果显示, GSDMD蛋白主要定位于心肌细胞质中(图2)。Western blotting检测结果显示, 与对照组比较, W2组、W4组、W6组NLRP3、Caspase-1和GSDMD蛋白表达量明显增加, 且W6组>W4组>W2组, 差异有统计学意义($P<0.05$, 图3)。



W2组.过劳2周组; W4组.过劳4周组; W6组.过劳6周组

图1 各组小鼠心肌组织病理学变化(HE染色)

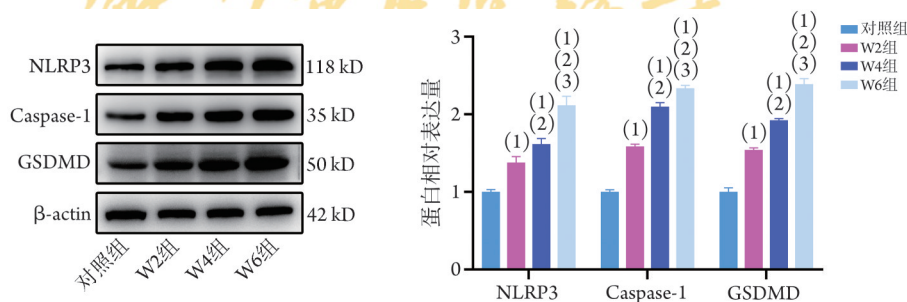
Fig.1 Histopathological changes of myocardium in each group of mice (HE staining)



箭头示GSDMD蛋白; W2组.过劳2周组; W4组.过劳4周组; W6组.过劳6周组

图2 各组小鼠心肌组织中消皮素D(GSDMD)蛋白表达情况(免疫组化染色)

Fig.2 Expression of GSDMD protein in myocardial tissue of mice in each group (immunohistochemical staining)



NLRP3. NOD样蛋白受体3; Caspase-1. 胱天蛋白酶1; GSDMD. 消皮素D; W2组.过劳2周组; W4组.过劳4周组; W6组.过劳6周组; 与对照组比较, (1) $P<0.05$; 与W2组比较, (2) $P<0.05$; 与W4组比较, (3) $P<0.05$

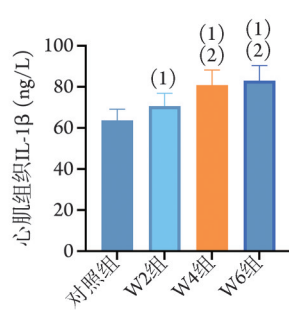
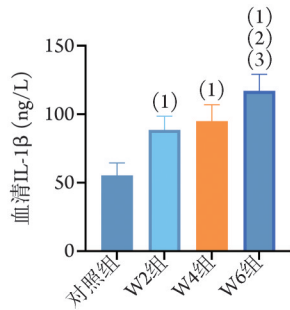
图3 各组小鼠心肌焦亡相关蛋白表达情况(Western blotting)

Fig.3 The expression of myocardial pyroptosis-related proteins in each group of mice (Western blotting)

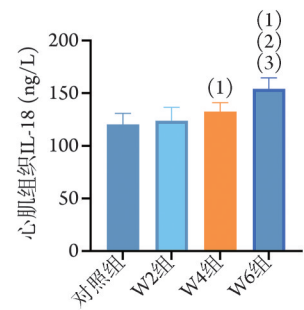
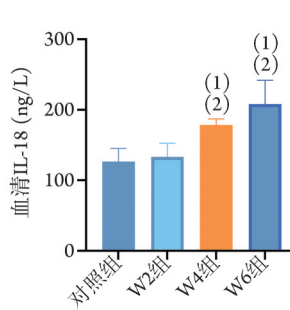
2.4 各组小鼠血清与心肌组织中IL-1 β 、IL-18含量比较 ELISA法检测结果显示, 与对照组比较, W2组、W4组、W6组血清及心肌组织中IL-1 β 含量明显增加, 血清中W6组>W4组和W2组, 心肌组织中

W6组和W4组>W2组, 差异有统计学意义($P<0.05$), 而血清中W2组与W4组、心肌组织中W4组与W6组中IL-1 β 含量差异无统计学意义($P>0.05$); 与对照组比较, W4组、W6组血清及心肌组织中IL-18含量明

显增加,血清中W6组和W4组>W2组,心肌组织中W6组>W4组和W2组,差异有统计学意义($P<0.05$),



W2组与对照组血清及心肌组织中IL-18含量差异无统计学意义($P>0.05$) (图4)。



IL. 白细胞介素; W2组. 过劳2周组; W4组. 过劳4周组; W6组. 过劳6周组; 与对照组比较, (1) $P<0.05$; 与W2组比较, (2) $P<0.05$; 与W4组比较, (3) $P<0.05$

图4 各组小鼠血清及心肌组织中IL-1β、IL-18含量比较

Fig.4 The levels of IL-1β and IL-18 in serum and cardiac muscle of mice in each group

3 讨论

过劳是介于健康与疾病之间的亚健康状态,多是机体在长期疲劳或急性耗竭基础上出现脏器功能障碍^[1],可引起机体潜藏的疾病急速恶化并造成危害。目前亚洲和非洲国家是全球超时工作的重灾区^[2],随着工作压力的逐渐加重,长期疲劳凸显出了对个人及社会的危害。为了模拟现代人工作中体力与心理的双重疲劳状态,本研究参考疲劳型亚健康小鼠模型的建立方法^[12]及本课题组前期实验^[13-15]的造模方法,采用水中站立结合束缚实验进行建模,避免了常规负重游泳模型产生呛水死亡等情况对实验结果的干扰,且可同时满足过长工作时间、较大心理压力、睡眠限制和自由活动限制的要求,可实现对小鼠生理和心理的双重干预。正常小鼠寿命2年左右,选择6~8周龄性成熟期小鼠并进行为期2~6周的观察,排除幼鼠或老年鼠,可模拟人类青壮年长期过劳工作的状态。

本研究发现,过劳小鼠体重增长缓慢,且全身毛发灰暗、精神状态差。HE染色结果显示,过劳可引起心肌细胞间质增生、血管充血、脂肪浸润增加以及心肌纤维肿胀、排列紊乱等,提示长期过劳可引起心肌细胞的结构性损伤,且损伤随过劳时间的延长而加重。免疫组化染色及Western blotting检测结果显示,过劳小鼠心肌组织中焦亡相关蛋白NLRP3、Caspase-1、GSDMD表达量随过劳加重而增加,血清及心肌组织中IL-1β、IL-18含量随过劳时间延长而呈增加趋势,表明长时间过劳对小鼠的一般状态及心肌组织结构均有不同程度的损伤,可引起小鼠心肌细胞焦亡并呈时间依赖性加剧,同时诱发心肌细胞炎性因子的产生增多。

目前研究显示,能量耗竭、代谢废物积累、免

疫失调、氧化应激、炎症等均为过劳的可能机制^[16]。炎症被认为是造成疲劳的一个重要机制,而过劳又进一步加重了机体的全身炎症^[10]。本研究结果显示,随着过劳时间延长,小鼠心肌组织及血清中焦亡相关炎性因子IL-1β、IL-18含量逐渐增加,表明过劳能够引起包括心肌在内的全身性炎症反应和炎性因子释放增加,是造成心血管损伤或疾病发作的重要原因。

近年来研究证实,经典焦亡路径NLRP3/Caspase-1/GSDMD在动脉粥样硬化、急性心肌梗死、心力衰竭等急慢性心血管疾病的发病机制中起着核心作用^[14,17]。NLRP3是含核苷酸结合和寡聚化结构域(NACHT)、富含亮氨酸重复序列(leucine-rich repeat, LRR)和pyrin结构域(pyrin domain, PYD)的蛋白,也是一种细胞内传感器,可检测外源性危险信号(多种微生物序列)、内源性危险信号和环境刺激物^[18-20],负责感知危险并触发局部或全身炎症反应。在高血压小鼠模型中发现,NLRP3抑制或缺失可改善心脏重塑,减轻炎症反应及纤维化^[21]。Toldo等^[11]发现,参与心血管调节的血管紧张素1型受体或肾上腺素能受体等可启动NLRP3,而细胞内活性氧、线粒体功能障碍、溶酶体破裂等能够激活NLRP3,NLRP3炎性小体激活后通过释放IL-1β进一步触发心肌损伤,并通过焦亡直接促进炎性细胞死亡。

Caspase-1在心肌细胞中的特异性过表达可诱导小鼠心力衰竭^[22-23]。Caspase-1转基因小鼠可出现扩张型心肌病、心肌纤维化增加和心力衰竭相关基因表达增加^[22]。有研究发现,小鼠心肌细胞GSDMD条件性缺失可显著改善梗死面积和心脏功能,GSDMD介导的心肌细胞焦亡是心肌缺血/再灌注(I/R)损伤期间的关键事件,而GSDMD抑制可显著减轻心肌细胞焦亡和I/R诱导的心肌损伤^[24];2022年Han等^[25]

发现, GSDMD 缺乏可减少血管紧张素 II 或压力超负荷诱导的小鼠心肌肥厚、功能障碍及相关的心肌细胞焦亡。本研究结果显示, 随着过劳时间延长, 焦亡相关蛋白表达量明显增加, 提示过劳参与了诱导心肌细胞焦亡的发生, 长期过劳可通过激活 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 通路对心肌细胞造成炎症性损伤, 从而促进急慢性心血管疾病的发生, 这可能是造成心源性过劳死的重要机制。

综上所述, 本研究结果表明, 过劳可引起小鼠心肌组织结构破坏, 焦亡蛋白 NLRP3、Caspase-1、GSDMD 表达量增加, 该通路下的相关炎症因子含量增加, 心肌组织炎症加剧, 从而促进心血管疾病的发生; 心肌细胞焦亡可能是过劳诱发心源性猝死的因素之一。本研究的不足之处在于仅进行了动物实验, 未能进一步证实人体心肌细胞焦亡与心血管事件的关系, 且仅观察了过劳影响下焦亡蛋白的表达变化, 未对其机制进行深入探讨。未来可进一步研究探讨社会环境压力-神经内分泌应答-心肌焦亡激活的机制, 以为预防心血管疾病提供新的策略。

【参考文献】

- [1] 石建忠. 过度劳动理论与实践——国外经验、中国现状和研究展望[J]. 人口与经济, 2019, (2): 105-118.
- [2] Pega F, Náfrádi B, Momen NC, *et al.* Global, regional, and national burdens of ischemic heart disease and stroke attributable to exposure to long working hours for 194 countries, 2000-2016: a systematic analysis from the WHO/ILO Joint Estimates of the Work-related Burden of Disease and Injury[J]. *Environ Int*, 2021, 154:106595.
- [3] Kivimäki M, Jokela M, Nyberg ST, *et al.* Long working hours and risk of coronary heart disease and stroke: a systematic review and meta-analysis of published and unpublished data for 603, 838 individuals[J]. *Lancet*, 2015, 386(10005): e1739-e1746.
- [4] Kivimäki M, Virtanen M, Kawachi I, *et al.* Long working hours, socioeconomic status, and the risk of incident type 2 diabetes: a meta-analysis of published and unpublished data from 222 120 individuals[J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2015, 3(1): e27-e34.
- [5] Ervasti J, Pentti J, Nyberg ST, *et al.* Long working hours and risk of 50 health conditions and mortality outcomes: a multicohort study in four European countries[J]. *Lancet Reg Health Eur*, 2021, 11: 100212.
- [6] Trudel X, Brisson C, Talbot D, *et al.* Long working hours and risk of recurrent coronary events[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2021, 77(13): e1616-e1625.
- [7] Otsui K, Yamamoto J, Inoue N. Overwork accelerates thrombotic reaction: implications for the pathogenesis of Karoshi[J]. *J Thromb Thrombolysis*, 2018, 45(2): e222-e224.
- [8] Kivimäki M, Nyberg ST, Batty GD, *et al.* Long working hours as a risk factor for atrial fibrillation: a multi-cohort study[J]. *Eur Heart J*, 2017, 38(34): e2621-e2628.
- [9] Xiao N, Yang BF, Shi JZ, *et al.* Karoshi may be a consequence of overwork-related malignant arrhythmia[J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25:e357-e364.
- [10] Lee W, Yim HW, Lee Y. Cohort study of long working hours and increase in blood high-sensitivity C-reactive protein (hsCRP) concentration: Mechanisms of overwork and cardiovascular disease[J]. *J Occup Health*, 2022, 64(1): e12359.
- [11] Toldo S, Mezzaroma E, Buckley LF, *et al.* Targeting the NLRP3 inflammasome in cardiovascular diseases[J]. *Pharmacol Ther*, 2022, 236: 108053.
- [12] 刘艳艳, 程静茹, 余克强, 等. 疲劳型亚健康小鼠模型的研制[J]. *广东医学*, 2012, 33(1): 21-24.
- [13] 甘露, 陈苏衡, 庄苗, 等. 不同程度的过劳对大鼠动脉血管平滑肌细胞的影响[J]. *陆军军医大学学报*, 2022, 44(5): 461-468.
- [14] 陈苏衡, 甘露, 庄苗, 等. 过度劳累对大鼠动脉血管壁细胞外基质的影响[J]. *中国医学科学院学报*, 2022, 44(2): 262-269.
- [15] 邓三春, 陈苏衡, 于恺华, 等. 过度劳累对小鼠脾脏造血功能的影响[J]. *陆军军医大学学报*, 2024, 46(5): 427-433.
- [16] Zhou Y, Chu Z, Luo Y, *et al.* Dietary polysaccharides exert anti-fatigue functions via the gut-muscle axis: advances and perspectives[J]. *Foods*, 2023, 12(16): 3083.
- [17] Toldo S, Abbate A. The role of the NLRP3 inflammasome and pyroptosis in cardiovascular diseases[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2024, 21(4): e219-e237.
- [18] Broz P, Dixit VM. Inflammasomes: mechanism of assembly, regulation and signalling[J]. *Nat Rev Immunol*, 2016, 16(7): e407-e420.
- [19] Swanson KV, Deng M, Ting JP. The NLRP3 inflammasome: molecular activation and regulation to therapeutics[J]. *Nat Rev Immunol*, 2019, 19(8): e477-e489.
- [20] 张明, 杨经文, 李悦, 等. 热打击单核细胞外泌体高迁移率族蛋白 B1 对内皮细胞炎症的作用[J]. *解放军医学杂志*, 2023, 48(6): 670-675.
- [21] Lian D, Lai J, Wu Y, *et al.* Cathepsin B-mediated NLRP3 inflammasome formation and activation in angiotensin II-induced hypertensive mice: role of macrophage digestion dysfunction[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 50(4): e1585-e1600.
- [22] Merkle S, Frantz S, Schön MP, *et al.* A role for caspase-1 in heart failure[J]. *Circ Res*, 2007, 100(5): e645-e653.
- [23] 李程程, 刘洋, 毛汉丁, 等. 右美托咪定对劳力性热射病大鼠相关性横纹肌溶解的缓解及其机制[J]. *解放军医学杂志*, 2024, 49(8): 922-929.
- [24] Shi H, Gao Y, Dong Z, *et al.* GSDMD-mediated cardiomyocyte pyroptosis promotes myocardial I/R Injury[J]. *Circ Res*, 2021, 129(3): e383-e396.
- [25] Han J, Dai S, Zhong L, *et al.* GSDMD (gasdermin D) mediates pathological cardiac hypertrophy and generates a feed-forward amplification cascade via mitochondria-STING (stimulator of interferon genes) axis[J]. *Hypertension*, 2022, 79(11): e2505-e2518.

(责任编辑: 纪方方)