

# Galectin-3 Mediates Cardiomyocyte Inflammatory Injury in Acute Myocardial Infarction Via TLR-4

Chao Zhang Na Wang Rui He Qiang Zhang

Department of Emergency Medicine, The Second Affiliated Hospital of Qiqihar Medical College, Qiqihar, Heilongjiang, 161000, China

## Abstract

**Objective:** To investigate the role of Galectin-3 (Gal-3) in acute myocardial infarction (AMI) and its mechanisms of inflammatory injury. **Methods:** A hypoxia/reoxygenation (H/R) model was established using the AC16 cell line to simulate AMI, and the expression of Gal-3 and its relationship with TNF- $\alpha$  and IL-6 were analyzed by qPCR and ELISA. The expression of Gal-3 was specifically knocked down to assess its impact on myocardial cell inflammatory responses. **Results:** H/R treatment upregulated the expression of Gal-3 and BNP in myocardial cells, accompanied by a significant increase in TNF- $\alpha$  and IL-6. Knockdown of Gal-3 led to a significant reduction in TNF- $\alpha$  and IL-6 levels. The downregulation of Gal-3 was associated with decreased TLR-4 expression, and overexpression of TLR-4 in si-Gal-3 cells resulted in increased levels of TNF- $\alpha$  and IL-6. **Conclusion:** Gal-3 expression is upregulated in AMI, correlating with the release of inflammatory factors and changes in cardiac function. Gal-3 may influence the inflammatory response in myocardial cells by modulating the expression and activity of TLR-4, thereby playing a key role in the pathophysiological process of myocardial infarction. These findings provide potential targets for the development of new therapeutic strategies.

## Keywords

Galectin-3 (Gal-3); acute myocardial infarction (AMI); Toll-like receptor 4 (TLR-4); myocardial Inflammation; inflammatory cytokines

# Galectin-3 通过 TLR-4 介导急性心肌梗死心肌细胞炎症损伤

张超 王娜 何睿 张强

齐齐哈尔医学院附属第二医院急诊内科, 中国·黑龙江 齐齐哈尔 161000

## 摘要

**目的:** 探讨Gal-3在急性心肌梗死(AMI)中的作用及其炎症损伤的机制。**方法:** AC16细胞系建立缺氧/复氧(H/R)模型模拟AMI,通过qPCR、ELISA分析Gal-3表达及其与TNF- $\alpha$ 、IL-6之间的关系。特异性敲低Gal-3的表达,评估其对心肌细胞炎症反应的影响。**结果:** H/R处理上调了心肌细胞中Gal-3及BNP的表达,并伴随着TNF- $\alpha$ 和IL-6的显著升高。敲低Gal-3后,TNF- $\alpha$ 和IL-6水平显著降低。Gal-3的下调伴随着TLR-4表达的降低,而对si-Gal-3再次过表达TLR-4的细胞TNF- $\alpha$ 和IL-6水平升高。**结论:** Gal-3在AMI中表达上调,伴随炎症因子的释放和心脏功能的变化。Gal-3可能通过调节TLR4的表达和活性来影响心肌细胞的炎症反应,从而在心肌梗死的病理过程中发挥关键作用。这些发现为开发新的治疗策略提供了潜在的靶点。

## 关键词

Galectin-3; 急性心肌梗死; Toll样受体4(TLR-4); 心肌细胞炎症; 炎症因子

## 1 引言

急性心肌梗死(AMI)具有较高发病率和死亡率<sup>[1]</sup>。Galectin-3(Gal-3)作为一种多功能的半乳糖结合蛋白,其在心血管疾病中的研究逐渐受到关注<sup>[2]</sup>。急性心肌梗死发生后,

Gal-3与炎症反应和纤维化密切相关。AMI患者体内Gal-3水平显著升高,Gal-3的升高与心脏结构重塑、心肌纤维化及心力衰竭的发生密切相关<sup>[3]</sup>。因此,Gal-3被认为是心脏纤维化和心力衰竭的生物标志物,其在临床上的应用潜力引起了广泛关注。研究表明,Gal-3能够促进炎症细胞的聚集和激活,从而加剧心肌损伤。Gal-3不仅影响心肌细胞的存活,还可能影响心脏的整体功能。

然而,Gal-3在心血管致病机制的上、下游途径仍不十分明确。有研究指出,Gal-3可以作为Toll样受体4(TLR-4)的天然旁分泌配体,这为研究Gal-3介导的促炎反应提供了新的研究方向<sup>[4]</sup>。Gal-3与TLR-4的相互作用可能在心肌梗

**【基金项目】** 齐齐哈尔市科技局联合引导项目(项目编号:LSFGG-2022095)。

**【作者简介】** 张超(1985-),男,中国黑龙江人,本科,主治医师,从事急诊内科研究。

死后的炎症反应中起到关键作用,进一步推动了 Gal-3 作为治疗靶点的研究。

## 2 材料与方法

### 2.1 细胞培养与转染

AC16 人心肌细胞系购自 Millipore Sigma 公司,使用含有 12.5% 胎牛血清 (E 四季青)、2mM L-谷氨酰胺和 1% 青霉素-链霉素溶液的 DMEM 培养基 (Sigma, D6434) 培养细胞,在 37°C、5% CO<sub>2</sub> 和 90% 湿度的条件下进行培养。将 AC16 细胞以  $1.0 \times 10^5$  个细胞/孔的密度铺于 12 孔板中,或以  $1.0 \times 10^4$  个细胞/孔的密度铺于 96 孔板中。24 小时后,使用 Lipofectamine 2000 (Life Technologies) 将人类 Gal-3 小干扰 RNA (siRNA) 或对照 siRNA (上海吉玛) 转染入细胞。

### 2.2 缺氧/复氧 (H/R) 构建细胞心肌梗死模型

AC16 细胞置于无氧环境 (95% N<sub>2</sub> 和 5% CO<sub>2</sub>) 下的无糖培养基中培养 4 小时。随后,将细胞置于 37°C、5% CO<sub>2</sub> 和 95% 空气的培养箱中,在完全培养基中培养 24 小时。以在正常氧条件下培养的 AC16 细胞作为对照。

### 2.3 Elisa 检测

各组细胞培养 24h 后,吸取上清液。使用 ELISA 试剂盒检测人血清 B 型钠尿肽 (BNP, CSB-E07970h, CUSABIO), 肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 和白细胞介素 6 (IL-6) (均购自索莱宝)。按照说明测量细胞液中 BNP、TNF- $\alpha$  和 IL-6 的水平。

### 2.4 qPCR 检测

使用 Trizol 试剂 (Life Technology) 从 AC16 细胞中提取总 RNA, 并利用 Quantum 试剂 (ThermoFisher Scientific) 进行第一链 cDNA 的反转录。通过实时荧光定量 PCR (TB Green® Fast qPCR Mix), 扩增条件为 95°C 3min, 95°C 15s, 60°C 30s, 40 个循环, Gal-3 (93bp) 引物序列: 5' -CTTCCACTTTAACCACGCTT CAA-3' (正向), 5' -TGTCTTTCTTCCCTTCCCCAGTTATT-3' (反向) GAPDH 引物序列如下: GAPDH 正向, 5' -AATCCCATC ATCTTC-3' 和反向, 5' -AGGCTGTGTCATCTTC-3'。通过  $2^{-\Delta\Delta CT}$  方法计算 mRNA 表达的相对水平。GAPDH 作为标准化的内部参考基因。

### 2.5 统计分析

数据以均值  $\pm$  标准差 (SD) 记录, 采用学生 t 检验或单因素方差分析 (ANOVA) 进行分析。P<0.05 表示差异有统计学意义。所有统计分析均使用 GraphPad Prism 软件 (GraphPad, La Jolla, CA, USA) 进行。

## 3 结果

### 3.1 Gal-3 在心肌梗死细胞中高表达

对缺氧/复氧 (H/R) 处理的心肌细胞与未处理的对照细胞进行了基因和蛋白表达分析。结果显示, H/R 处理显著上调了 AC16 细胞中 Gal-3 的表达水平, 与未处理的细胞相

比, 具有统计学意义。ELISA 分析揭示了 H/R 处理后心肌细胞中 BNP 及炎症因子 TNF- $\alpha$  和 IL-6 水平显著升高, 差异具有统计学意义。表明 Gal-3 可能在心肌细胞的炎症反应和心脏功能变化中扮演着重要角色。

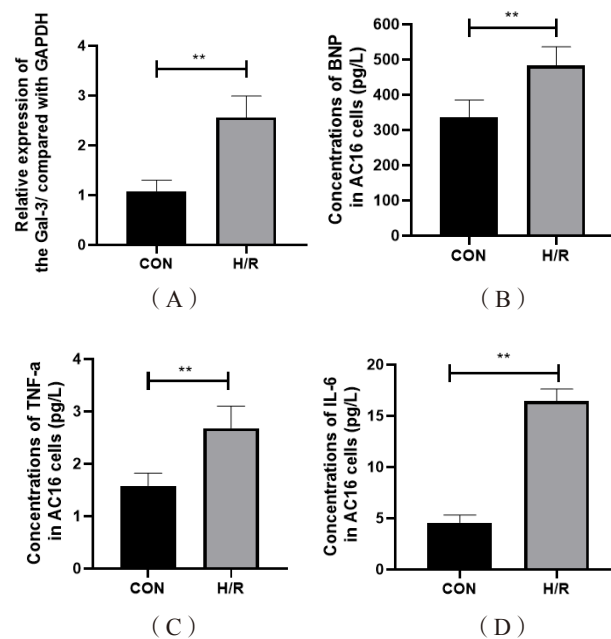


图 1 H/R 细胞中 Gal-3 与炎症因子高表达

图 1 中, A: qPCR 检测细胞中 Gal-3 的基因表达水平; B~D: Elisa 检测细胞中 BNP、TNF- $\alpha$  以及 IL-6 的表达水平。与 con 相比, \*\* 表示 P<0.05。

### 3.2 Gal-3 表达与心肌梗死细胞炎症损伤有关

我们通过 RNA 干扰技术 (siRNA) 特异性敲低了 Gal-3 的表达, H/R 处理后, si-Gal-3 组细胞与 si-NC 组细胞相比 Gal-3 的表达水平显著降低。ELISA 结果显示, si-Gal-3 组细胞中 TNF- $\alpha$  和 IL-6 的水平也显著降低, 与 si-NC 细胞相比, 这些炎症标志物的减少具有统计学意义。这些结果表明, Gal-3 的表达下调能够有效减轻心肌细胞的炎症反应, 这可能与 Gal-3 在炎症信号通路中的关键作用有关。

图 2 中, A: qPCR 检测细胞中 Gal-3 的基因表达水平; B~D: Elisa 检测细胞中 BNP、TNF- $\alpha$  以及 IL-6 的表达水平。与 con 相比, \*\* 表示 P<0.05。

### 3.3 Gal-3 通过 TLR-4 介导急性心肌梗死心肌细胞炎症损伤

si-Gal-3 细胞中 TLR-4 的表达水平也显著降低。为了进一步探讨 Gal-3 与 TLR-4 之间的关系, 我们对 si-Gal-3 细胞进行了 TLR-4 的过表达, 并再次进行了 H/R 处理。结果显示, 过表达 TLR-4 的细胞中炎症因子的表达水平有所升高, 逆转了敲低 si-Gal-3 导致的炎症因子上升降低的效应, 这进一步证实了 TLR-4 在心肌炎症中的关键调节作用。这些结果提示我们, Gal-3 可能通过调节 TLR-4 的表达和活性来影响心肌细胞的炎症反应。

## 4 讨论

本研究深入探讨了 Galectin-3 (Gal-3) 在心肌梗死 (MI) 中的作用及其潜在的分子机制。通过建立缺氧/复氧 (H/R) 模型模拟心肌梗死的病理状态, H/R 处理显著上调了 Gal-3 的表达水平, 心肌损伤标志物 BNP 也显著升高, 伴随着炎症因子如 TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 IL-1 $\beta$  水平的显著增加。此外,

特异性敲低 Gal-3 的表达后, 观察到炎症因子水平显著降低, si-Gal-3 细胞中 TLR-4 的表达水平也显著降低。这些数据共同支持了 Gal-3 可能通过 TLR-4 介导的途径参与心肌梗死中炎症反应的观点。

图 3 中, A: qPCR 检测细胞中 Gal-3 的基因表达水平; B~C: Elisa 检测细胞中 BNP、TNF- $\alpha$  以及 IL-6 的表达水平。\*\* 表示  $P < 0.05$ ; \*\*\* 表示  $P < 0.01$ 。

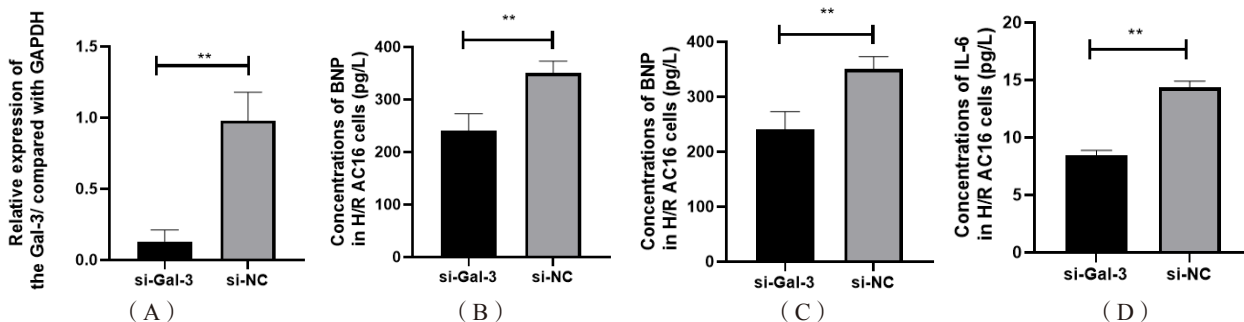


图 2 敲低 Gal-3 对细胞的影响

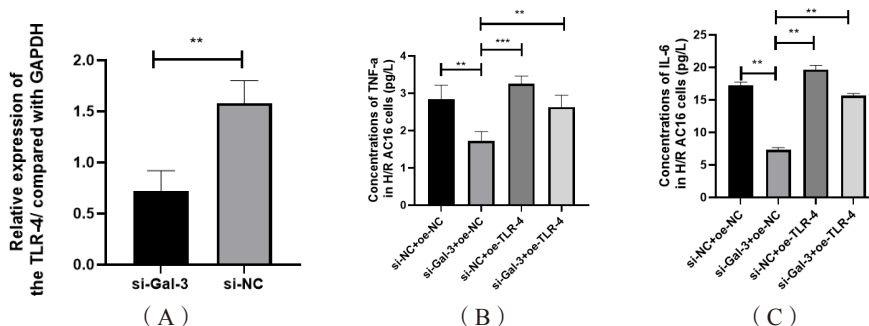


图 3 Gal-3 通过 TLR-4 介导急性心肌梗死心肌细胞炎症损伤

Gal-3 作为一种多功能的糖结合蛋白, 在多种细胞类型中发挥着重要作用, 尤其是在炎症和免疫反应中<sup>[5]</sup>。本研究的结果表明, 在心肌梗死的病理过程中, Gal-3 的表达显著上调, 且与炎症因子的表达水平密切相关。Gal-3 的上调可能促进了炎症因子的释放, 加剧了心肌细胞的炎症损伤。这些发现与先前的研究结果一致, 即 Gal-3 在心血管疾病中的表达增加与心脏损伤和功能障碍有关。因此, Gal-3 可能作为一个关键的生物标志物和治疗靶点, 用于心肌梗死的诊断和治疗。

TLR-4 作为模式识别受体, 在识别病原体 and 损伤相关分子模式中发挥着核心作用, 从而激活炎症反应<sup>[6]</sup>。本研究发现, 过表达 TLR-4 的细胞中炎症因子的表达水平有所升高, 逆转了敲低 si-Gal-3 导致的炎症因子上升降低的效应。这些结果表明 Gal-3 可能通过调节 TLR-4 的表达和活性来影响心肌细胞的炎症反应。提示 Gal-3 可能通过 TLR-4 介导的信号通路参与心肌梗死的炎症反应。这一发现为理解 Gal-3 在心肌梗死中的作用机制提供了新的视角。

综上所述, 本研究发现 Gal-3 在心肌梗死中的表达上调, 并与炎症因子的释放和心脏功能的变化密切相关。Gal-3 可能通过调节 TLR4 的表达和活性来影响心肌细胞的炎症反

应, 从而在心肌梗死的病理过程中发挥关键作用。

## 参考文献

- [1] 中国心血管健康与疾病报告编写组.中国心血管健康与疾病报告2020概要[J].中国循环杂志,2021,36(6): 521-545.
- [2] Sun Z, Zhang I, Li I, et al. Galectin-3 mediates cardiac remodeling caused by impaired glucose and lipid metabolism through inhibiting two pathways of activating Akt[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2021,320(1):H364-H380.
- [3] 白冬阳,黄丽君,张丽华.FGF23、Gal-3、Toll样受体4在慢性心力衰竭患者中的表达及意义[J].广东医学,2021,42(3):343-346.
- [4] Hara A, Niwa M, KaRayalTla T. prognostic and diagnostic marker et al. Galectin-3:a potential for heart disease and detertion of early stage pathology[J]. Biomolecules, 2020,10(9):1277.
- [5] 潘青,朱晓晴,毕言雪,等.QTc、Tp-Tec间期联合血清BNP、Gal-3 预测急性心肌梗死后室性心律失常的临床研究[J].现代生物医学进展,2024,24(17):3396-3400.
- [6] 牛艳菲,周文哲,申彬如.芪芳强心胶囊联合沙库巴曲缬沙坦钠对老年慢性心力衰竭患者血清Gal-3、Copeptin水平及TLR4/NF- $\kappa$ B信号通路的影响[J].黑龙江医药科学,2024,47(2):62-65.