

论著·基础研究

血红蛋白诱导心肌细胞铁死亡及 Basigin 的调控机制研究

李文丽, 钟方元, 赵怡超, 金力行, 雷 杰, 石 瑶, 卜 军, 葛 恒

上海交通大学医学院附属仁济医院心内科, 上海 200127

[摘要] **目的**·探讨血红蛋白(hemoglobin, Hb)诱导心肌细胞损伤的机制, 以及Basigin (BSG) 在其中的调控作用。**方法**·构建体外实验模型, 采用不同浓度Hb (0、7.5、15.0、30.0 $\mu\text{mol/L}$) 处理H9c2心肌细胞, 并利用WST-1法和流式细胞术检测细胞活性及死亡率; 随后, 对H9c2心肌细胞进行缺氧/复氧处理, 并加入低浓度梯度的Hb (0、2.5、5.0、7.5 $\mu\text{mol/L}$) 模拟缺血再灌注损伤的病理微环境, 以进一步验证Hb对心肌细胞的毒性作用。使用多种细胞死亡抑制剂, 包括坏死性凋亡抑制剂(necrostatin-1, Nec-1)、自噬抑制剂(3-methyladenine, 3-MA)、铁死亡抑制剂(ferrostatin-1, Fer-1)、焦亡抑制剂(VX-765)干预, 以探究Hb促进心肌细胞损伤的机制。采用Western blotting及实时荧光定量PCR检测Hb诱导后心肌细胞中Bsg mRNA和蛋白质表达变化。采用siRNA敲低H9c2心肌细胞中Bsg的表达水平, 并通过WST-1法和流式细胞术验证BSG在Hb诱导的心肌细胞损伤和铁死亡过程中的作用。**结果**·无论在常氧还是缺氧/复氧条件下, Hb均对H9c2心肌细胞表现出直接的毒性作用, 且该毒性作用呈现浓度依赖性。进一步研究发现, 相较于其他细胞死亡抑制剂, 铁死亡抑制剂Fer-1能够更显著地减轻Hb诱导的心肌细胞损伤。Western blotting和实时荧光定量PCR结果显示, 与对照组相比, Hb处理组H9c2心肌细胞中Bsg的mRNA和蛋白表达水平显著增加。敲低Bsg的表达能够降低铁死亡标志物前列腺素内过氧化物酶2(prostaglandin-endoperoxide synthase 2, Ptg2) mRNA的表达, 并减轻Hb诱导的心肌细胞损伤和死亡。**结论**·Hb可能通过诱导心肌细胞铁死亡导致心肌损伤; BSG在此过程中发挥一定作用, 抑制其表达能够抵抗Hb诱导的铁死亡和心肌细胞损伤。

[关键词] 心肌内出血; 缺血再灌注损伤; 血红蛋白; 心肌细胞; 铁死亡; Basigin

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2025.12.001 **[中图分类号]** R542.2 **[文献标志码]** A

Mechanisms of Basigin regulation in hemoglobin-induced cardiomyocyte ferroptosis

LI Wenli, ZHONG Fangyuan, ZHAO Yichao, JIN Lixing, LEI Jie, SHI Yao, PU Jun, GE Heng

Department of Cardiology, Renji Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200127, China

[Abstract] **Objective**·To investigate the mechanism of hemoglobin (Hb)-induced cardiomyocyte injury and the regulatory role of Basigin (BSG) in this process. **Methods**·An *in vitro* model was established by treating H9c2 cardiomyocytes with different concentrations of Hb (0, 7.5, 15.0, and 30.0 $\mu\text{mol/L}$); cell viability and mortality were detected using the WST-1 assay and flow cytometry. Subsequently, H9c2 cardiomyocytes underwent hypoxia/reoxygenation treatment with low-concentration gradients of Hb (0, 2.5, 5.0, and 7.5 $\mu\text{mol/L}$) to simulate the pathological microenvironment of ischemia-reperfusion injury, further validating Hb's toxic effects on cardiomyocytes. Multiple cell death inhibitors were used, including a necroptosis inhibitor (necrostatin-1, Nec-1), an autophagy inhibitor (3-methyladenine, 3-MA), a ferroptosis inhibitor (ferrostatin-1, Fer-1), and a pyroptosis inhibitor (VX-765), to investigate the mechanism of Hb-induced cardiomyocyte injury. Bsg mRNA and protein levels were detected by Western blotting and real-time quantitative PCR. Bsg expression was knocked down in H9c2 cardiomyocytes using siRNA; the role of BSG in Hb-induced cardiomyocyte injury and ferroptosis was then verified by the WST-1 assay and flow cytometry. **Results**·Under both normoxic and hypoxia/reoxygenation conditions, Hb showed direct toxic effects on H9c2 cardiomyocytes in a concentration-dependent manner. Further investigation showed that, compared with other cell death inhibitors, the ferroptosis inhibitor Fer-1 more significantly alleviated Hb-induced cardiomyocyte injury. Western blotting and real-time quantitative PCR results demonstrated that compared with the control group, Bsg mRNA and protein expression levels were significantly increased in Hb-treated H9c2 cardiomyocytes. Knockdown of Bsg expression decreased the mRNA expression of the ferroptosis marker prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (Ptgs2) and alleviated Hb-induced cardiomyocyte injury and death. **Conclusion**·Hb may induce myocardial injury by promoting cardiomyocyte ferroptosis; BSG plays a role in this process, and inhibition of its expression can counteract Hb-induced ferroptosis and cardiomyocyte injury.

[Key words] intramyocardial hemorrhage; ischemia-reperfusion injury; hemoglobin (Hb); cardiomyocyte; ferroptosis; Basigin (BSG)

[基金项目] 国家自然科学基金 (81770238); 新疆维吾尔自治区自然科学基金 (2022D01C16); 上海市卫生健康委员会学科带头人计划 (2022XD018)。
[通信作者] 葛 恒, 主任医师, 博士; 电子信箱: dr.geheng@foxmail.com。

[Funding Information] National Natural Science Foundation of China (81770238); Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region (2022D01C16); Discipline Leader Program of Shanghai Municipal Health Commission (2022XD018)。

[Corresponding Author] GE Heng, E-mail: dr.geheng@foxmail.com.



经皮冠状动脉介入治疗 (percutaneous coronary intervention, PCI) 作为急性 ST 段抬高型心肌梗死 (ST-segment elevation myocardial infarction, STEMI) 的首选治疗策略, 可显著降低患者的急性期死亡率^[1-2]。然而, 再灌注治疗后心力衰竭的发生率依然不容忽视。流行病学调查^[3-4]显示, STEMI 患者接受 PCI 治疗后 5 年内, 心力衰竭的发生率高达 31.3%。及时的 PCI 治疗虽能够有效恢复心外膜冠状动脉血流, 但约 57% 的患者仍会发生微血管功能障碍, 导致微循环灌注不足, 进而出现无复流现象 (no-reflow phenomenon), 显著限制了再灌注治疗的临床效果^[5-6]。微血管功能障碍主要包括微血管阻塞 (microvascular obstruction, MVO) 和心肌内出血 (intramyocardial hemorrhage, IMH); 其中, IMH 已被证实是预测心血管不良事件的重要独立危险因素^[7-8]。研究^[9]表明, 与未发生 IMH 的 STEMI 患者相比, 发生 IMH 的患者往往具有更大的梗死面积和更广泛的 MVO, 并与不良心室重构及心功能障碍密切相关。因此, IMH 在 STEMI 患者心肌缺血再灌注后心肌损伤和心室重构中的作用机制仍有待深入研究。

Basigin (BSG), 又称 CD147 或细胞外基质金属蛋白酶诱导物 (extracellular matrix metalloproteinase inducer, EMMPRIN), 是免疫球蛋白超家族成员, 属于细胞表面跨膜糖蛋白^[10]。作为一种广泛表达于多种细胞类型的跨膜蛋白, BSG 不仅在生理条件下参与细胞间相互作用、信号转导等过程, 还在多种病理过程中发挥重要作用。BSG 在心血管疾病中的作用已被广泛研究; 研究^[11-14]证实, BSG 参与动脉粥样硬化和心肌炎等疾病的发病机制。在心肌缺血再灌注损伤中, BSG 的表达水平和功能也受到关注。有研究^[15]表明, BSG 在心肌缺血再灌注过程中表达上调, 并可能通过促炎症反应、细胞凋亡等途径加重组织损伤。然而, 目前关于 BSG 在 IMH 发生后, 血红蛋白 (hemoglobin, Hb) 介导的心肌细胞损伤中的潜在作用及调控机制尚未明确阐述。基于此, 本研究旨在探讨 BSG 在 Hb 诱导的心肌细胞损伤中的调控机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及仪器

碘化丙啶 (propidium iodide, PI)、Hb (美国 Sigma-Aldrich), WST-1 细胞增殖及细胞毒性检测试

剂盒、转染试剂 Lipofectamine 8000、蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂 (上海碧云天), TRIzol 试剂 (日本 TaKaRa), BSG 抗体 (英国 Abcam, 货号 ab188190), β -肌动蛋白 (β -actin) 抗体 (美国 Cell Signaling Technology, 货号 #4970), 培养细胞总蛋白抽提试剂 (武汉博士德生物), BCA 试剂盒 (美国 Thermo Fisher Scientific), 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS)、青霉素-链霉素 (penicillin-streptomycin, P/S)、DMEM 高糖培养基 (上海欲立生物), 坏死性凋亡抑制剂 (necrostatin-1, Nec-1)、自噬抑制剂 (3-methyladenine, 3-MA)、铁死亡抑制剂 (ferrostatin-1, Fer-1)、焦亡抑制剂 (VX-765) (中国 Selleck), Opti-MEM 培养基 (美国 Gibco), 反转录试剂盒、SYBR Green I qPCR Master Mix (南京诺唯赞), 辣根过氧化物酶标记二抗 (美国 Jackson ImmunoResearch Laboratories), ECL 化学发光液 (上海圣尔生物)。

三气孵育箱、多功能酶标仪、NanoDrop2000 微量分光光度计 (美国 Thermo Fisher Scientific), LSRFortessa X-20 流式细胞分析仪 (美国 BD), T100 PCR 仪 (美国 Bio-Rad), LightCycler® 480 II 实时荧光定量 PCR 仪 (瑞士 Roche)。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养及处理 将实验室保存的大鼠心肌细胞系 H9c2, 接种于含 10% FBS 和 1×P/S 溶液的 DMEM 高糖培养基中, 置于 37 °C、5% CO₂ 恒温培养箱中进行常规培养。随后, 将 H9c2 心肌细胞接种于 6 孔板或 96 孔板, 待细胞稳定贴壁后, 分别加入 Hb (浓度分别为 0、7.5、15.0、30.0 μ mol/L), 处理 24 h。为进一步模拟体内心肌缺血再灌注的微环境, 将细胞转移至三气培养箱 (1% O₂、5% CO₂、94% N₂) 进行缺氧处理 6 h 后复氧, 之后给予 Hb (浓度分别为 0、2.5、5.0、7.5 μ mol/L), 处理 24 h。此外, 为探究 Hb 促进心肌细胞损伤的具体机制, 本研究采用多种细胞死亡特异性抑制剂进行干预, 包括 Nec-1 (20 μ mol/L)、3-MA (1 mmol/L)、Fer-1 (2 μ mol/L) 和 VX-765 (20 μ mol/L)。细胞经不同抑制剂预处理 24 h 后, 加入 Hb (15.0 μ mol/L) 继续培养 24 h, 处理结束后收集细胞, 用于后续实验分析。

1.2.2 siRNA 转染 将 H9c2 细胞以约 5×10^4 个/孔的密度接种于 6 孔板中, 置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中

常规培养。待细胞汇合度达到 60%~70% 时, 用 Lipofectamine 8000 进行 si-*Bsg* 或 si-NC 的转染并孵育 6 h 后换液。转染后培养 48 h, 收集细胞进行后续相应的实验。siRNA 序列见表 1。

表 1 siRNA 序列 (5'→3')
Tab 1 Sequences of siRNA (5'→3')

siRNA	Forward	Reverse
si-NC	UUCUCCGAACGUGUCAC GUdTdT	ACGUGACACGUUCGGAG AAdTdT
si- <i>Bsg</i>	GAUCAAGGUGGGAAAG AAtt	UUUCUUUCCACCUUGA UCtt

1.2.3 WST-1 检测细胞活力变化 将 H9c2 心肌细胞以约 5×10^3 个/孔的密度接种于 96 孔板, 待细胞贴壁后, 根据实验分组进行相应处理。之后, 每孔加入 10 μ L WST-1 试剂, 避免产生气泡, 轻轻混匀。将 96 孔板置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 培养箱中孵育 2 h。使用酶标仪测定波长 450 nm 处的吸光度值。

1.2.4 PI 染色检测细胞死亡率 收集各处理组细胞, 经预冷 PBS 洗涤后, 以 $110 \times g$ 离心 5 min, 弃去上清液。用 500 μ L PBS 重悬细胞并加入 5 μ L PI 染色液, 轻柔混匀, 室温避光孵育 30 min。PBS 清洗细胞 2 次后弃去上清液, 最后用 100 μ L PBS 重悬细胞。采用流式细胞仪上机检测, 使用 FlowJo 软件 10.8.1 分析 PI 阳性细胞比例, 评估细胞死亡率。

1.2.5 实时荧光定量 PCR 采用 TRIzol 法, 提取 H9c2 心肌细胞 RNA; 通过反转录获得 cDNA。以 cDNA 为模板, 行实时荧光定量 PCR。反应体系 (10 μ L): 双蒸水 3.6 μ L, cDNA 模板 1 μ L, 上、下游引物各 0.2 μ L, SYBR Green I qPCR Master Mix 5 μ L。反应条件: 95 $^{\circ}$ C 30 s; 95 $^{\circ}$ C 5 s, 60 $^{\circ}$ C 31 s, 72 $^{\circ}$ C 30 s, 共 40 个循环; 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 15 s, 95 $^{\circ}$ C 15 s。引物由上海生工生物工程有限公司合成, 序列详见表 2。以 β -actin 为内参, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算目标基因的相对水平。

表 2 实时荧光定量 PCR 引物序列 (5'→3')
Tab 2 Primer sequences for real-time quantitative PCR (5'→3')

Gene	Forward primer	Reverse primer
<i>Ptgs2</i>	TTCCTCTGTGGCTGAT GACTG	AGGTCCTCGCTTCTGAT CTGTC
<i>Bsg</i>	GCATCTTCCTTCCTGAG CCTGTG	TGGCGTGTTCCGATTCTT TTCCC
β -actin	CACTATCGGCAATGAGC GGTTC	CAGCACTGTGTTGGCAT AGAGG

Note: *Ptgs2*—prostaglandin-endoperoxide synthase 2.

1.2.6 Western blotting 收集各实验组细胞样品后, 加入预先添加磷酸酶抑制剂和蛋白酶抑制剂的培养细胞总蛋白提取剂, 冰上裂解 30 min 后 $12\,000 \times g$ 离心 15 min 收集上清液。采用 BCA 蛋白质测定试剂盒进行蛋白质浓度定量。采用 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE) 分离总蛋白, 并转移至聚偏二氟乙烯 (polyvinylidene difluoride, PVDF) 膜。转膜后, PVDF 膜于室温下用含 5% 脱脂奶粉的 TBST 封闭液封闭 1 h; 随后置于 4 $^{\circ}$ C 摇床上进行一抗孵育过夜 [*BSG* 抗体 (1 : 1 000)、 β -actin 抗体 (1 : 1 000)]。次日回收一抗, 使用 TBST 清洗膜 5 min, 3 次。加入辣根过氧化物酶标记的二抗 (1 : 10 000), 室温孵育 1 h。TBST 洗涤 3 次后, 使用 ECL 进行显影, 并用 Image Lab 1.54 软件对条带灰度值进行半定量分析, 以 β -actin 作为内参校正, 计算目标蛋白的相对表达量。

1.3 统计学分析

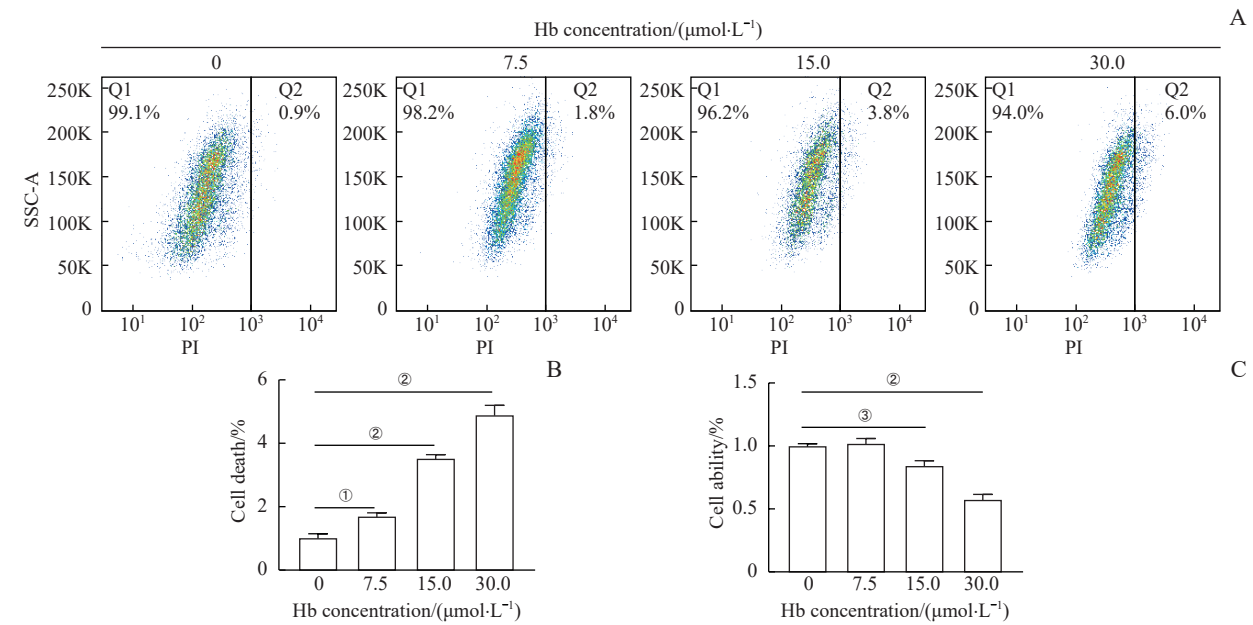
采用 GraphPad Prism 8.3.0 软件进行统计学分析。定量资料以 $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ 表示, 2 组间比较采用独立样本 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析。*P* < 0.05 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 Hb 对 H9c2 心肌细胞的毒性作用

为了探究 Hb 对心肌细胞的影响, 我们分别给予 H9c2 心肌细胞不同浓度的 Hb (0、7.5、15.0、30.0 μ mol/L), 培养 24 h。与对照组 (0 μ mol/L) 相比, 随着 Hb 浓度增加, H9c2 心肌细胞死亡率呈剂量依赖性升高 (图 1A、B)。此外, WST-1 细胞活性检测结果 (图 1C) 显示, Hb 浓度越高, 心肌细胞活性越低, 该结果与流式细胞术检测的细胞死亡率结果一致。

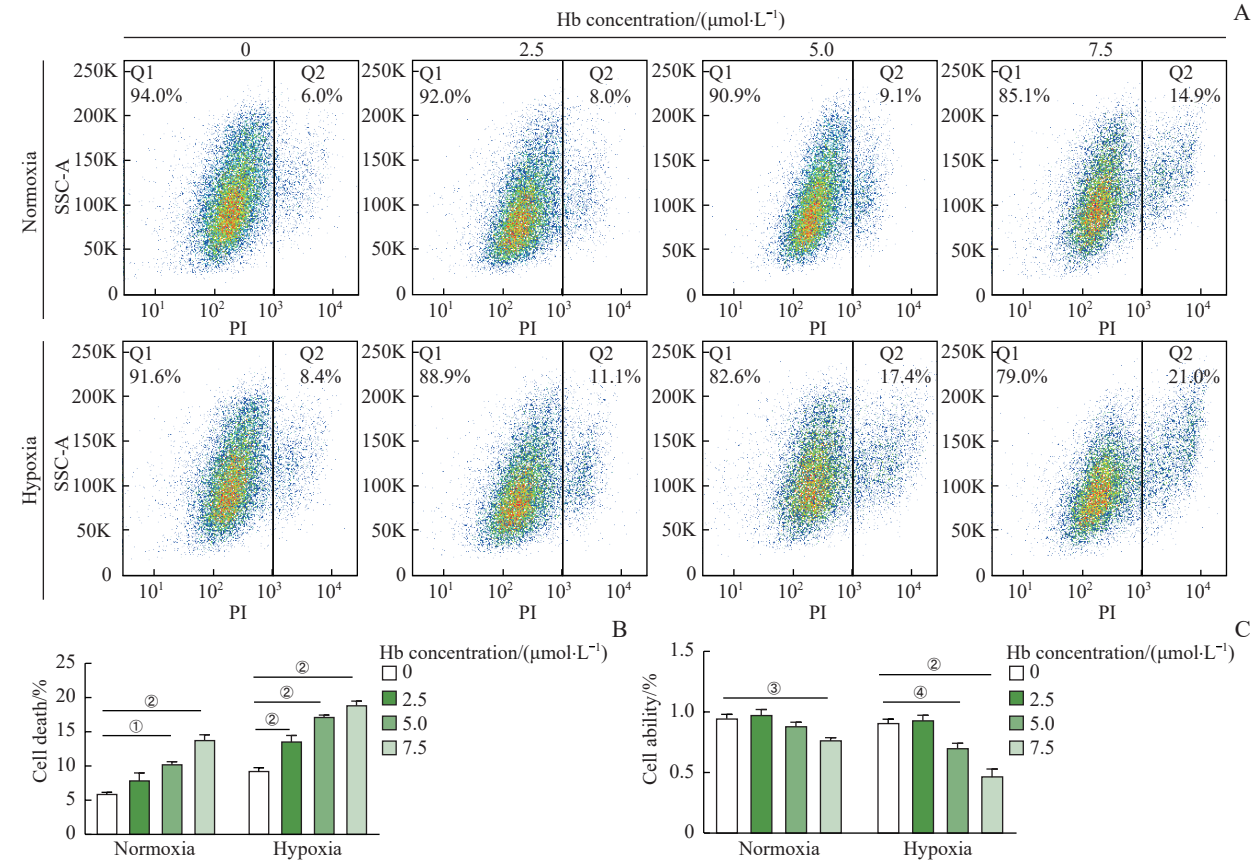
为进一步模拟缺血再灌注后心肌局部微环境, 我们对 H9c2 心肌细胞进行缺氧/复氧处理, 并同时加入不同低浓度水平的 Hb (0、2.5、5.0、7.5 μ mol/L) 处理 (图 2)。PI 染色后流式细胞术检测结果显示, 在常氧及缺氧/复氧条件下, Hb 处理均可剂量依赖性地诱导 H9c2 细胞死亡。WST-1 细胞活性检测得到了同样的结果, Hb 处理可剂量依赖性地降低 H9c2 心肌细胞活性。



Note: A. Flow cytometry analysis of PI-positive H9c2 cardiomyocytes after treatment with different concentrations of Hb for 24 h. B. Quantitative analysis of PI-positive rates in H9c2 cardiomyocytes. C. WST-1 assay to detect the viability of H9c2 cardiomyocytes after treatment with different concentrations of Hb. ① $P=0.044$, ② $P<0.001$, ③ $P=0.020$.

图1 Hb 诱导 H9c2 心肌细胞损伤且呈浓度依赖性

Fig 1 H9c2 cardiomyocyte injury induced by Hb in a concentration-dependent manner



Note: A. Flow cytometry analysis of PI-positive H9c2 cardiomyocytes after hypoxia (1% O_2 , 6 h) followed by treatment with different concentrations of Hb for 24 h. B. Quantitative analysis of PI-positive rates in H9c2 cardiomyocytes. C. WST-1 assay to detect the viability of H9c2 cardiomyocytes after hypoxia followed by treatment with different concentrations of Hb. ① $P=0.032$, ② $P<0.001$, ③ $P=0.042$, ④ $P=0.010$.

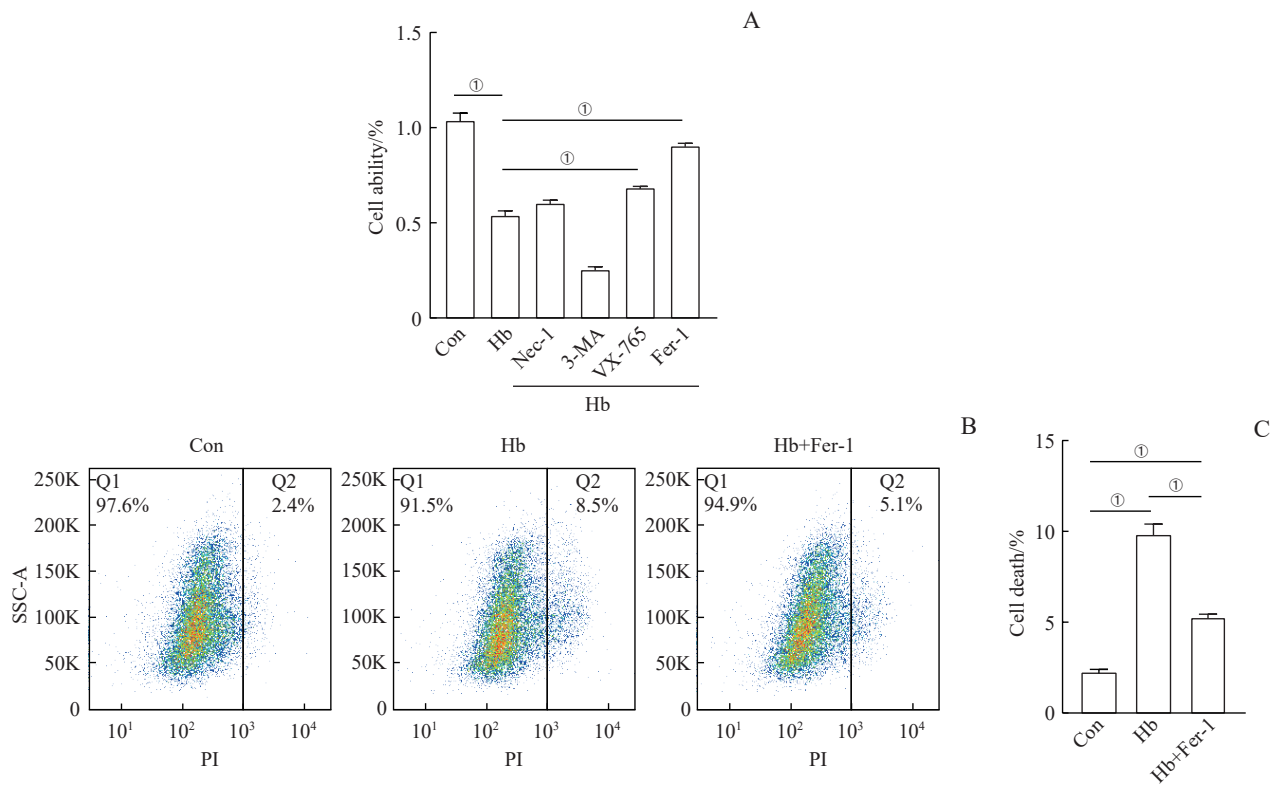
图2 Hb 加重缺氧诱导的 H9c2 心肌细胞损伤

Fig 2 Hypoxia-induced H9c2 cardiomyocyte injury exacerbated by Hb

2.2 Hb 诱导 H9c2 心肌细胞损伤的途径

为了探究 Hb 诱导心肌细胞损伤的作用机制,我们采用多种细胞死亡特异性抑制剂进行干预。细胞活性检测结果(图 3A)显示,与单纯 Hb 处理组相比, Fer-1 和 VX-765 均可部分挽救 Hb 诱导的心肌细胞死

亡,其中 Fer-1 的保护作用最为显著($P<0.001$)。此外, PI 染色结果(图 3B、C)显示,与单纯 Hb 处理组相比, Fer-1 可显著降低心肌细胞死亡率($P<0.001$)。上述结果提示, Hb 可能通过激活铁死亡途径诱导 H9c2 心肌细胞损伤。



Note: A. WST-1 assay to detect the effects of different cell death inhibitors on the viability of H9c2 cardiomyocytes induced by Hb. B. Flow cytometry analysis of the effect of Fer-1 on PI-positive rate in Hb-treated H9c2 cardiomyocytes. C. Quantitative analysis of the flow cytometry results. ① $P<0.001$.

图3 铁死亡抑制剂对 Hb 诱导的 H9c2 心肌细胞损伤的影响

Fig 3 Effect of the ferroptosis inhibitor on Hb-induced H9c2 cardiomyocyte injury

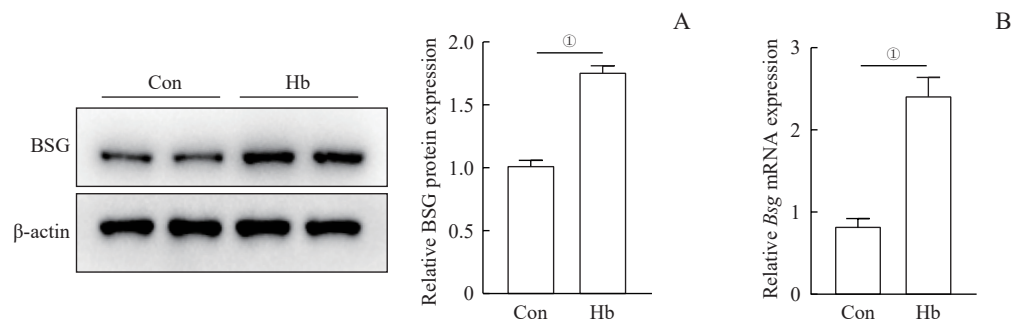
2.3 Hb 处理上调 H9c2 心肌细胞中 Bsg 表达水平

为探讨 Bsg 在 Hb 诱导心肌细胞损伤中的潜在作用,我们采用 $15.0 \mu\text{mol/L}$ Hb 处理 H9c2 心肌细胞 24 h 后检测 Bsg 表达水平的变化。实时荧光定量 PCR 和 Western blotting 结果(图 4)均显示,与对照组相比, Hb 处理组 H9c2 心肌细胞中 Bsg 的 mRNA 和蛋白表达水平均显著上调(均 $P<0.001$)。

2.4 敲低 Bsg 通过抑制铁死亡减轻 Hb 诱导的 H9c2 心肌细胞损伤

为进一步验证 Bsg 在 Hb 诱导心肌细胞损伤中的调控作用,我们通过转染 siRNA 敲低 H9c2 心肌细

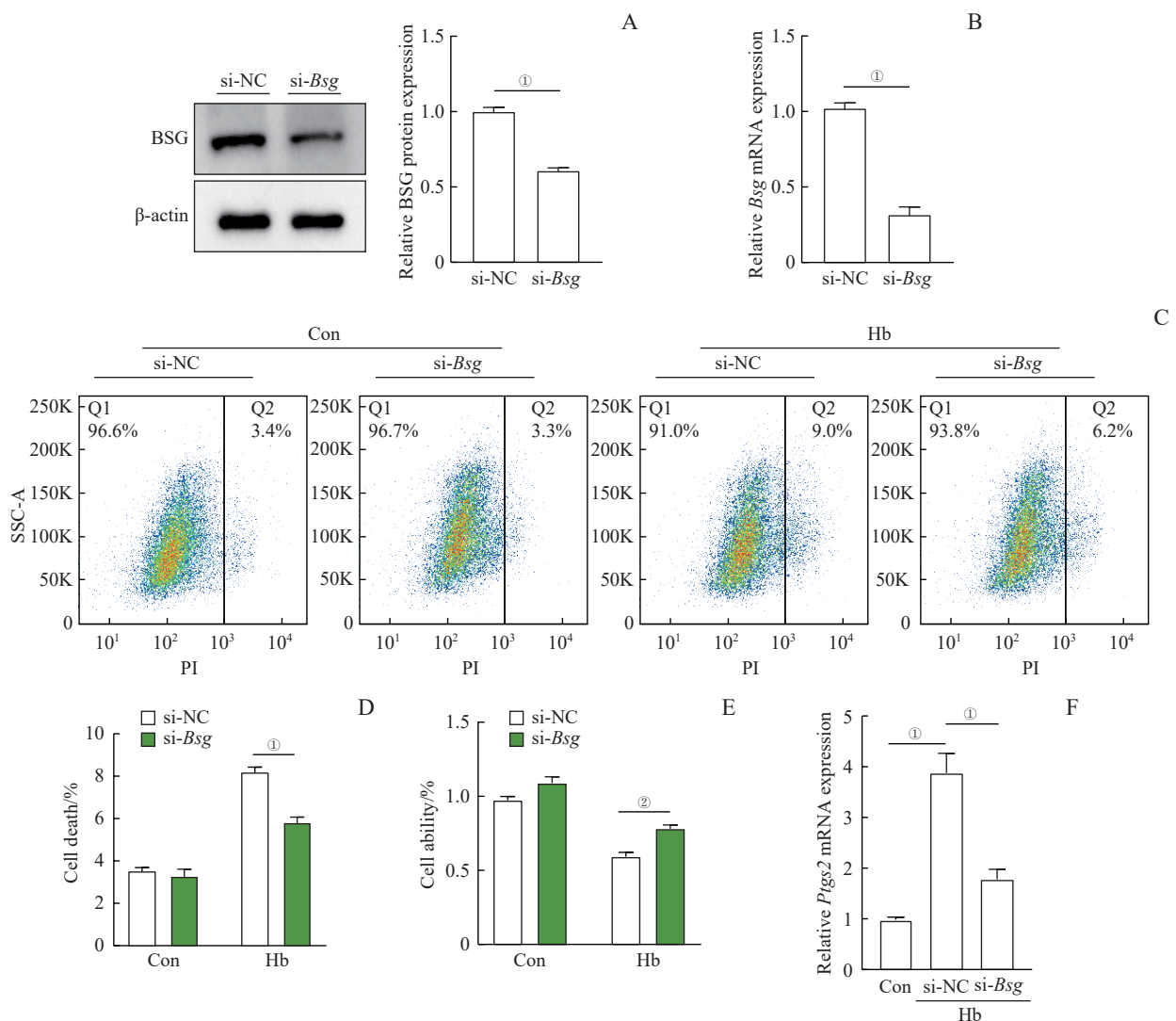
胞中 Bsg 的表达。实时荧光定量 PCR 和 Western blotting 结果(图 5A、B)显示, si-Bsg 可显著降低 H9c2 心肌细胞中 Bsg 的 mRNA 和蛋白表达水平(均 $P<0.001$)。流式细胞术及 WST-1 检测结果(图 5C~E)显示,与对照组相比,敲低 Bsg 可显著减少 Hb 引起的心肌细胞死亡,提高细胞活力(均 $P<0.05$)。此外,敲低 Bsg 可显著降低 Hb 处理组 H9c2 心肌细胞中铁死亡分子标志物 *Ptgs2* mRNA 的表达水平(图 5F, $P<0.001$)。因此,上述结果提示敲低 Bsg 基因可通过抑制铁死亡途径减轻 Hb 诱导的 H9c2 心肌细胞损伤。



Note: A. Western blotting analysis of BSG protein expression levels in two groups of H9c2 cardiomyocytes. B. Real-time quantitative PCR analysis of *Bsg* mRNA expression levels in two groups of H9c2 cardiomyocytes. ① $P < 0.001$.

图4 Hb诱导的H9c2心肌细胞中BSG表达变化

Fig 4 Hb-induced changes in BSG expression in H9c2 cardiomyocytes



Note: A. Western blotting analysis of BSG protein expression levels after si-NC or si-*Bsg* transfection. B. Real-time quantitative PCR analysis of *Bsg* mRNA expression levels after si-NC or si-*Bsg* transfection. C. Flow cytometry analysis of the effect of *Bsg* silencing on the PI-positive rate in Hb-treated H9c2 cardiomyocytes. D. Quantitative analysis of the flow cytometry results. E. WST-1 assay to detect the viability of H9c2 cardiomyocytes in the indicated groups. F. Real-time quantitative PCR analysis of *Ptgs2* mRNA expression in Hb-treated H9c2 cardiomyocytes after *Bsg* silencing. ① $P < 0.001$, ② $P = 0.011$.

图5 敲低Bsg对Hb诱导的H9c2心肌细胞损伤的影响

Fig 5 Effects of knocking down *Bsg* on Hb-induced H9c2 cardiomyocyte injury

3 讨论

IMH是STEMI患者行PCI术后常见的并发症之一。临床研究^[16]显示,在接受PCI治疗的STEMI患者中,IMH的发生率可高达39%,且与心室重构、心功能障碍及主要不良心血管事件的发生呈显著相关性。IMH的病理特征主要表现为:心肌缺血再灌注后,由于微血管结构和功能受损,红细胞外渗至心肌间质。IMH不仅反映了微血管损伤的严重程度,更被证实是一种独立的危险因素,能加剧心肌细胞损伤并促进心脏不良重构^[5,17]。基于此,本研究旨在深入探讨IMH发生后,其核心病理介质——Hb对心肌细胞的直接毒性作用及其介导的分子机制。我们通过体外实验,给予H9c2心肌细胞系不同浓度Hb处理,以模拟IMH发生后心肌细胞直接暴露于Hb的病理微环境。我们的研究表明,无论在常氧还是缺氧/复氧条件下,Hb均能促进H9c2心肌细胞损伤和死亡,且这种损伤效应呈现明显的浓度依赖性,明确证实了Hb对心肌细胞具有直接毒性作用。

IMH发生后,大量外渗的红细胞溶解释放Hb,后者进一步降解为血红素和游离铁离子,导致局部区域铁离子过载^[18-19]。IMH可通过铁离子沉积介导的细胞毒性、氧化应激增强和炎症反应加剧等多种途径,进一步加重心肌损伤^[20-21]。研究^[5,22]表明,大多数接受PCI治疗后发生IMH的STEMI患者,其心肌残余铁沉积与左室不良重构密切相关。鉴于铁离子在IMH病理过程中的重要作用,我们关注到铁死亡这一机制。铁死亡是一种以铁依赖性和脂质过氧化为特征的程序性细胞死亡方式,铁稳态失衡是其发生的重要前提^[23]。近年来的研究^[24-25]已证实铁死亡在多种心血管疾病的病理生理过程中发挥关键作用。在本研究中,我们发现通过不同细胞死亡方式抑制剂处理后,焦亡抑制剂(VX-765)和铁死亡抑制剂(Fer-1)均可减轻Hb引起的心肌细胞损伤和死亡,其中Fer-1表现出更显著的保护效果。此外,既往研究^[26]也指出,采用铁离子螯合剂治疗能够减轻IMH后心肌铁沉积,并缓解心肌梗死后慢性不良重构,这与我们的研究结果相一致。综合上述结果,我们发现Hb可能主要通过促进心肌细胞铁死亡导致其损伤。

BSG是一种广泛表达于细胞表面的跨膜糖蛋白,在细胞增殖、迁移、分化及炎症反应等多种生理和病

理过程中发挥关键调控作用^[27-28]。先前研究^[29]表明,在脑出血后,脑内皮细胞、星形胶质细胞、小胶质细胞及巨噬细胞中BSG的表达水平显著升高,且BSG作为基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)的诱导物,能够增加MMP-9的表达及活性,从而加剧脑组织损害。在本研究中,我们观察到Hb处理后H9c2心肌细胞中的BSG表达水平同样显著升高;进一步研究发现,敲低H9c2心肌细胞中的Bsg表达后,Hb诱导的细胞死亡明显减少,且铁死亡关键标志物Ptgs2的mRNA表达水平也显著降低。因此,我们的结果表明,BSG可能作为关键调控因子参与Hb诱导的心肌细胞铁死亡过程;这为IMH的临床治疗提供了新的潜在靶点。

BSG的膜定位特性使其成为药物靶向的理想候选分子。在肿瘤、炎症等疾病的治疗中,靶向BSG的特异性抗体已经展现出良好的治疗前景。例如,抗BSG单克隆抗体美妥昔单抗(metuximab)在重症新型冠状病毒感染的临床研究中可显著降低患者死亡率,改善临床预后,且安全性良好^[30]。另一种单克隆抗体6E7F1通过特异性结合BSG的Ig2域,抑制其配体单羧酸转运蛋白1(monocarboxylate transporter 1, MCT1)和MCT4的活性,减少细胞乳酸转运,从而发挥抗肿瘤作用^[31]。此外,BSG小分子抑制剂AC-73能够抑制T细胞活化和免疫细胞浸润,在病毒性心肌炎小鼠模型中可显著减轻心脏炎症和病理损伤^[32]。值得关注的是,雷公藤甲素作为从雷公藤中提取的活性成分,不仅能够降低BSG的表达^[33],还可通过调控STAT3/P53信号通路保护线粒体功能并抑制铁死亡^[34];这与本研究发现的BSG介导铁死亡机制具有潜在关联。在心血管领域,尽管目前尚无公认的靶向BSG特异性药物,但该类药物在其他疾病中的研究进展,为IMH等心血管疾病治疗提供了重要的验证方向及转化思路。基于本研究的发现,未来可进一步评估现有BSG调节剂在防治IMH相关心肌损伤中的治疗潜力,以期临床干预策略提供新的思路。

本研究为探索BSG在IMH相关心肌损伤中的作用提供了新的视角。然而,我们也认识到本研究存在一定的局限性。首先,本研究主要采用体外H9c2心肌细胞系结合Hb处理,旨在模拟IMH发生后心肌细胞所处的病理微环境。尽管此模型能够有效阐明Hb

对心肌细胞的直接毒性作用及其介导的分子机制,但其无法完全模拟体内IMH的完整病理生理过程。其次,本研究虽揭示了BSG在Hb诱导的铁死亡中发挥调控作用,但BSG在体内IMH发生发展中的确切功能及具体机制,仍有待进一步深入探索。针对以上本研究的局限性,未来研究将致力于构建在体IMH动物模型,在整体水平上验证BSG在IMH发生发展中的确切作用及具体机制,并进一步评估靶向BSG在IMH防治中的潜在临床价值,从而为IMH相关心肌损伤的有效干预提供更坚实的理论和实验依据。

综上所述,本研究揭示了Hb作为IMH的核心介质,通过上调BSG表达诱导心肌细胞铁死亡,而抑制BSG表达能够有效抑制这一效应发生,减轻Hb引起的心肌细胞损伤。因此,BSG可作为潜在治疗靶点,为IMH相关心肌损伤的防治提供新的方向。

利益冲突声明/Conflict of Interests

所有作者声明不存在利益冲突。

All authors declare no relevant conflict of interests.

作者贡献/Authors' Contributions

葛恒、李文丽、赵怡超及钟方元负责研究的构思与设计;李文丽、金立行及雷杰完成实验操作;葛恒、卜军、李文丽及石瑶负责文章的撰写和修订。所有作者均阅读并同意最终稿件的提交。

GE Heng, LI Wenli, ZHAO Yichao, and ZHONG Fangyuan were responsible for the conception and design of this study; LI Wenli, JIN Lixing, and LEI Jie performed the experiments; GE Heng, PU Jun, LI Wenli, and SHI Yao contributed to the writing and revision of the manuscript. All authors have read the final version of paper and consented to its submission.

• Received: 2025-06-19

• Accepted: 2025-08-21

• Published online: 2025-12-28

参 · 考 · 文 · 献

- [1] DAMLUJI A A, VAN DIEPEN S, KATZ J N, et al. Mechanical complications of acute myocardial infarction: a scientific statement from the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2021, 144(2): e16-e35.
- [2] ZEYMER U, LUDMAN P, DANCHIN N, et al. Reperfusion therapies and in-hospital outcomes for ST-elevation myocardial infarction in Europe: the ACVC-EAPCI EORP STEMI Registry of the European Society of Cardiology[J]. *Eur Heart J*, 2021, 42(44): 4536-4549.
- [3] EZEKOWITZ J A, KAUL P, BAKAL J A, et al. Declining in-hospital mortality and increasing heart failure incidence in elderly patients with first myocardial infarction[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2009, 53(1): 13-20.
- [4] DOCHERTY K F, JACKSON A M, MACARTNEY M, et al. Declining risk of heart failure hospitalization following first acute myocardial infarction in Scotland between 1991–2016[J]. *Eur J Heart Fail*, 2023, 25(8): 1213-1224.
- [5] BULLUCK H, ROSMINI S, ABDEL-GADIR A, et al. Residual myocardial iron following intramyocardial hemorrhage during the convalescent phase of reperfused ST-segment-elevation myocardial infarction and adverse left ventricular remodeling[J]. *Circ Cardiovasc Imaging*, 2016, 9(10): e004940.
- [6] D'ENTREMONT M A, ALAZZONI A, DZAVIK V, et al. No-reflow after primary percutaneous coronary intervention in patients with ST-elevation myocardial infarction: an angiographic core laboratory analysis of the TOTAL Trial[J]. *EuroIntervention*, 2023, 19(5): e394-e401.
- [7] LECHNER I, REINDL M, STIERMAIER T, et al. Clinical outcomes associated with various microvascular injury patterns identified by CMR after STEMI[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2024, 83(21): 2052-2062.
- [8] VORA K P, KUMAR A, KRISHNAM M S, et al. Microvascular obstruction and intramyocardial hemorrhage in reperfused myocardial infarctions: pathophysiology and clinical insights from imaging[J]. *JACC Cardiovasc Imaging*, 2024, 17(7): 795-810.
- [9] LIU T, HOWARTH A G, CHEN Y Y, et al. Intramyocardial hemorrhage and the "wave front" of reperfusion injury compromising myocardial salvage[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2022, 79(1): 35-48.
- [10] LIU Y, QI L X, LI Z, et al. Crosstalk between matrix metalloproteinases and their inducer EMMPRIN/CD147: a promising therapeutic target for intracerebral hemorrhage[J]. *Transl Stroke Res*, 2025, 16(2): 557-567.
- [11] SEIZER P, OCHMANN C, SCHÖNBERGER T, et al. Disrupting the EMMPRIN (CD147)-cyclophilin A interaction reduces infarct size and preserves systolic function after myocardial ischemia and reperfusion[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(6): 1377-1386.
- [12] REDDY V S, PRABHU S D, MUMMIDI S, et al. Interleukin-18 induces EMMPRIN expression in primary cardiomyocytes via JNK/Sp1 signaling and MMP-9 in part via EMMPRIN and through AP-1 and NF-κB activation[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2010, 299(4): H1242-H1254.
- [13] SUZUKI K, SATOH K, IKEDA S, et al. Basigin promotes cardiac fibrosis and failure in response to chronic pressure overload in mice[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2016, 36(4): 636-646.
- [14] YOON Y W, KWON H M, HWANG K C, et al. Upstream regulation of matrix metalloproteinase by EMMPRIN; extracellular matrix metalloproteinase inducer in advanced atherosclerotic plaque[J]. *Atherosclerosis*, 2005, 180(1): 37-44.
- [15] TIMMERS L, PASTERKAMP G, DE HOOG V C, et al. The innate immune response in reperfused myocardium[J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 94(2): 276-283.
- [16] VYAS R, CHANGAL K H, BHUTA S, et al. Impact of intramyocardial hemorrhage on clinical outcomes in ST-elevation myocardial infarction: a systematic review and meta-analysis[J]. *J Soc Cardiovasc Angiogr Interv*, 2022, 1(6): 100444.
- [17] BETGEM R P, DE WAARD G A, NIJVELDT R, et al. Intramyocardial haemorrhage after acute myocardial infarction[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2015, 12(3): 156-167.
- [18] CHEN Y F, LI X T, WANG S Y, et al. Targeting iron metabolism and ferroptosis as novel therapeutic approaches in cardiovascular diseases[J]. *Nutrients*, 2023, 15(3): 591.
- [19] FAN X B, LI A L, YAN Z P, et al. From iron metabolism to ferroptosis: pathologic changes in coronary heart disease[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 6291889.
- [20] COKIC I, CHAN S F, GUAN X M, et al. Intramyocardial

- hemorrhage drives fatty degeneration of infarcted myocardium[J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 6394.
- [21] CHEN R D, ZHANG Y Q, ZHANG H R, et al. SGLT2 inhibitor dapagliflozin alleviates intramyocardial hemorrhage and adverse ventricular remodeling via suppressing hepcidin in myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. Eur J Pharmacol, 2023, 950: 175729.
- [22] REINSTADLER S J, STIERMAIER T, REINDL M, et al. Intramyocardial haemorrhage and prognosis after ST-elevation myocardial infarction[J]. Eur Heart J Cardiovasc Imaging, 2019, 20(2): 138-146.
- [23] JIANG X J, STOCKWELL B R, CONRAD M. Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2021, 22(4): 266-282.
- [24] LI J Y, LIU S Q, YAO R Q, et al. A novel insight into the fate of cardiomyocytes in ischemia-reperfusion injury: from iron metabolism to ferroptosis[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 799499.
- [25] MA J D, ZHANG H Q, CHEN Y F, et al. The role of macrophage iron overload and ferroptosis in atherosclerosis[J]. Biomolecules, 2022, 12(11): 1702.
- [26] BEHROUZI B, WEYERS J J, QI X L, et al. Action of iron chelator on intramyocardial hemorrhage and cardiac remodeling following acute myocardial infarction[J]. Basic Res Cardiol, 2020, 115(3): 24.
- [27] WU J, CHEN L, QIN C, et al. CD147 contributes to SARS-CoV-2-induced pulmonary fibrosis[J]. Signal Transduct Target Ther, 2022, 7(1): 382.
- [28] LV J J, WANG H, ZHANG C, et al. CD147 sparks atherosclerosis by driving M1 phenotype and impairing efferocytosis[J]. Circ Res, 2024, 134(2): 165-185.
- [29] LIU Y, BAI Q, YONG V W, et al. EMMPRIN promotes the expression of MMP-9 and exacerbates neurological dysfunction in a mouse model of intracerebral hemorrhage[J]. Neurochem Res, 2022, 47(8): 2383-2395.
- [30] BIAN H J, CHEN L, ZHANG Z, et al. Meplazumab, a CD147 antibody, for severe COVID-19: a double-blind, randomized, placebo-controlled, phase 3 clinical trial[J]. Signal Transduct Target Ther, 2025, 10(1): 119.
- [31] ZHANG H, YANG X M, XUE Y, et al. A basigin antibody modulates MCTs to impact tumor metabolism and immunity[J]. Cell Discov, 2025, 11(1): 44.
- [32] WANG R F, ZONG K X, SONG J, et al. Inhibitor of CD147 suppresses T cell activation and recruitment in CVB3-induced acute viral myocarditis[J]. Viruses, 2023, 15(5): 1137.
- [33] YUAN S Q, WANG L P, CHEN X X, et al. Triptolide inhibits the migration and invasion of human prostate cancer cells via Caveolin-1/CD147/MMPs pathway[J]. Biomed Pharmacother, 2016, 84: 1776-1782.
- [34] ZHOU J, LI S Z, YANG Y T, et al. Triptolide alleviates acute lung injury by reducing mitochondrial dysfunction mediated ferroptosis through the STAT3/P53 pathway[J]. Free Radic Biol Med, 2025, 230: 79-94.

[本文编辑] 瞿麟平

学术快讯

上海交通大学医学院附属第九人民医院专家团队研发出牙周炎智能筛查系统

2025年11月19日,上海交通大学医学院附属第九人民医院口腔颌面及感官综合健康研究院、牙周种植创新中心托内特(Maurizio S. Tonetti)教授团队,于Nature合作期刊npj Digital Medicine在线发表题为“A novel AI-powered radiographic analysis surpasses specialists in stage II–IV periodontitis detection: a multicenter diagnostic study”的研究论文。该研究系统评估了基于口腔全景片的深度学习模型HC-Net+在真实多中心临床场景中对II~IV期牙周炎的诊断能力。结果显示,HC-Net+在多中心临床验证中展现出94.2%的诊断准确率,显著优于牙周专科医师,能辅助初级口腔医师的诊断。

该研究为牙周炎筛查提供了一种高效、精准且易于推广的新工具。HC-Net+无需基层机构追加设备,仅通过现有全景片就能提供高质量的牙周炎筛查服务,有效降低了诊疗门槛与患者不适感。这使其在社区中心及偏远地区的普及应用成为可能,为有效缓解优质口腔医疗资源分布不均提供了可行的技术路径。