小分子化合物Telaglenastat抑制病理性心肌肥厚的作用及机制研究

汪　坤，刘若冰，李红良，胡宇峰
（赣南医科大学创新与转化医学研究院，江西　赣州　341000）

摘　要：目的：探究小分子化合物Telaglenastat对病理性心肌肥厚的治疗作用，为临床开发相关治疗药物提供先导化合物和研究思路。**方法：**以不同浓度的Telaglenastat处理H9C2和AC16细胞，采用CCK-8法检测Telaglenastat对正常心肌细胞的毒性作用；利用苯肾上腺素（Phenylephrine，PE）诱导的原代心肌细胞肥大模型，基于不同处理方式分为4组［对照组（DMSO+PBS组）、模型组（DMSO+PE组）、2个不同浓度Telaglenastat处理组（Telaglenastat+PE组）］进行药效评价：RT-qPCR和Western blot分别检测心肌肥厚标志物心房钠尿肽（Atrial natriuretic peptide，Anp）、脑钠肽（B-type natriuretic peptide，Bnp）的mRNA和蛋白表达水平。利用转录组学分析Telaglenastat处理对心肌肥厚相关信号通路的影响。建立主动脉弓缩窄（Transverse aortic constriction，TAC）小鼠模型诱导病理性心肌肥厚，根据处理方式不同分为4组，包括假手术+溶剂组（Sham+Vehicle）、假手术+给药组（Sham+Telaglenastat）、TAC手术+溶剂组（TAC+Vehicle）及TAC手术+给药组（TAC+Telaglenastat）。通过超声心动图评估4组小鼠的心功能；采用苏木精-伊红（Hematoxylin-eosin，HE）染色和天狼星红（Picrosirius red，PSR）染色观察4组小鼠的心脏组织病理学改变。**结果：**CCK-8结果显示，在H9C2和AC16等正常心肌细胞中，与DMSO对照组比较，除5 μmol/L浓度Telaglenastat处理的AC16细胞中细胞活性差异有统计学意义外（$P<0.001$），其他浓度的Telaglenastat处理后的细胞均无明显细胞毒性（$P>0.05$）。在PE诱导的心肌细胞肥大模型中，与DMSO+PE组相比，2个浓度的Telaglenastat+PE组心肌肥厚标志物Anp和Bnp的mRNA及蛋白表达水平明显下调（$P<0.01$）。在TAC小鼠模型中，与TAC+Vehicle组相比，TAC+Telaglenastat组左心室射血分数（Ejection fraction，EF）和左心室缩短分数（Fractional shortening，FS）提高（$P<0.05$），心脏重量体重比（Heart weight to body weight ratio，HW/BW）、肺重量体重比（Lung weight to body weight ratio，LW/BW）及心脏重量胫骨长度比（Heart weight to tibia length ratio，HW/TL）降低（$P<0.01$）。HE和PSR染色结果显示，与TAC+Vehicle组相比，TAC+Telaglenastat组心肌细胞大小更小及心脏胶原纤维化数量更少。转录组学分析表明，与DMSO+PE组相比，Telaglenastat+PE组的炎症反应、纤维化及蛋白合成相关基因表达均呈下调趋势，并且线粒体自噬通路相关基因表达上调。**结论：**Telaglenastat在体内外均能有效抑制病理性心肌肥厚，改善心功能，其保护作用可能与激活心肌细胞线粒体自噬途径相关。

关键词：心力衰竭；心肌肥厚；Telaglenastat；自噬；线粒体自噬
中图分类号：R541　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**2097-7174（2026）09-0817-11
DOI：10.3969/j.issn.2097-7174.2026.09.004

Investigations on the role and mechanisms of Telaglenastat in pathological cardiac hypertrophy

WANG Kun, LIU Ruobing, LI Hongliang, HU Yufeng
(Gannan Innovation and Translational Medicine Research Institute, Gannan Medical University, Ganzhou, Jiangxi 341000)

Abstract: Objective: To investigate the therapeutic effect of the small molecule compound Telaglenastat on pathological myocardial hypertrophy, aiming to provide a potential lead compound and research direction for the clinical development of related therapeutic agents. **Methods:** H9C2 and AC16 cells were treated with different concentrations of Telaglenastat,

基金项目：江西省自然科学基金项目（20252BAC270001）；江西省教育厅研究生创新专项资金项目（YC2024-S832）
通信作者：胡宇峰，男，博士，副教授，研究方向：心血管疾病。E-mail：yufenghu21@gmu.edu.cn
李红良，男，博士，教授，博士生导师，研究方向：心血管疾病。E-mail：lihongliang@gmu.edu.cn

and the CCK-8 assay was used to evaluate the cytotoxic effects of telaglenastat on normal cardiomyocytes. A phenylephrine (PE)-induced neonatal rat cardiomyocyte hypertrophy model was established, and the cells were divided into four groups (DMSO+PBS, DMSO+PE, 2.5 μmol/L Telaglenastat+PE, and 5 μmol/L Telaglenastat+PE) for efficacy evaluation. The mRNA and protein expression levels of the cardiac hypertrophy markers atrial natriuretic peptide (Anp) and B-type natriuretic peptide (Bnp) were detected by RT-qPCR and western blot, respectively. Transcriptomic analysis was performed to investigate the effects of telaglenastat on signaling pathways related to cardiac hypertrophy and its underlying mechanisms. A mouse model of transverse aortic constriction (TAC)-induced pathological cardiac hypertrophy was established, and the mice were divided into four groups: sham surgery + vehicle (Sham+Vehicle), sham surgery + Telaglenastat (Sham+Telaglenastat), TAC surgery + vehicle (TAC+Vehicle), and TAC surgery + Telaglenastat (TAC+Telaglenastat). Cardiac function in the four groups was assessed by echocardiography. Hematoxylin-eosin (HE) staining and picrosirius red (PSR) staining were used to observe histopathological changes in heart tissues from the four groups. **Results**: CCK-8 assay results showed that, compared with the DMSO control group, there was no significant cytotoxicity in normal cardiomyocytes (H9C2 and AC16) treated with various concentrations of Telaglenastat ($P>0.05$), except that a statistically significant difference in cell viability was observed in AC16 cells treated with 5 μmol/L Telaglenastat ($P<0.001$). In the PE-induced cardiomyocyte hypertrophy model, compared with the DMSO+PE group, the Telaglenastat+PE group showed significantly downregulated mRNA and protein expression levels of the cardiac hypertrophy markers Anp and Bnp ($P<0.01$). In the TAC mouse model, compared with the TAC+Vehicle group, the TAC+Telaglenastat group exhibited significantly increased left ventricular ejection fraction (EF) and fractional shortening (FS) ($P<0.05$), as well as significantly reduced heart weight-to-body weight ratio (HW/BW), lung weight-to-body weight ratio (LW/BW), and heart weight-to-tibia length ratio (HW/TL) ($P<0.01$). HE and PSR staining results showed that, compared with the TAC+Vehicle group, the TAC+Telaglenastat group had smaller cardiomyocyte cross-sectional areas and less cardiac collagen fibrosis. Transcriptomic analysis revealed that, compared with the DMSO+PE group, the Telaglenastat+PE group exhibited downregulated expression of genes related to inflammatory response, fibrosis, and protein synthesis, along with upregulated expression of genes involved in the mitophagy pathway. **Conclusion**: Telaglenastat effectively inhibits pathological cardiac hypertrophy and improves cardiac function both in *vitro* and in *vivo*, and its protective effects may be associated with the activation of the mitophagy pathway in cardiomyocytes.

Key words: Heart failure; Cardiac hypertrophy; Telaglenastat; Autophagy; Mitophagy

心力衰竭是多种心血管疾病的终末期阶段，全球患者数约6 400万至7 000万，是心血管疾病相关死亡的主要死因之一[1-4]。病理性心脏肥厚是心脏在压力超负荷、主动脉狭窄或基因突变等病理刺激下产生的适应性反应，其核心特征为心肌细胞体积异常增大[5-6]。这种异常增生可导致心脏顺应性下降及泵血功能受损，最终诱发心力衰竭。与由运动等生理因素诱导、具有保护作用的生理性心肌肥厚不同，病理性心肌肥厚往往加剧心脏重构，促进心力衰竭进展[7-9]。目前，由于对病理性心肌肥厚的分子机制认识有限，临床上仍缺乏针对性治疗药物。

近年来研究表明，自噬在心肌肥厚进程中发挥关键调控作用[10-11]。自噬通过清除受损细胞器（如线粒体）及错误折叠蛋白，维持心肌细胞稳态，并在生理性肥厚中发挥保护性作用。哺乳动物细胞中的自噬过程主要包括：起始、延伸、自噬体形成、与溶酶体融合及内容物降解等阶段[12-14]。该机制通过将胞内物质转运至溶酶体进行大分子降解与回收，参与调控蛋白质、细胞器与脂质稳态，对维持细胞生存及内环境稳定至关重要[15-19]。因此，靶向调控自噬过程可能为病理性心肌肥厚的治疗提供新策略。

Telaglenastat是一种口服小分子谷氨酰胺酶1抑制剂，主要通过抑制肿瘤细胞中的谷氨酰胺代谢，干扰下游信号通路并影响能量生成，从而发挥抗肿瘤作用[20-22]。然而，该药物在心血管系统疾病中的作用尚未明确。基于此，本研究旨在探讨Telaglenastat在病理性心肌肥厚中的治疗作用。通过构建体外心肌细胞肥大模型及病理性心肌肥厚小鼠模型，系统评估该化合物对疾病发生与进展的保护效应。本研究有望为病理性心肌肥厚的药物研发提供新思路与实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 健康SPF级雄性C57BL/6J小鼠

(6周龄、体重20 g左右),健康SPF级SD大鼠(3 d龄、雌雄不限),均购自斯贝福生物技术有限公司。动物实验经赣南创新与转化医学研究院实验动物伦理委员会审查批准(编号:GIMI-K2025008)。

1.1.2　药品与试剂　Telaglenastat(Amole公司,B212547)、无水乙醇(国药集团化学试剂有限公司,0009218)、三氯甲烷(国药集团化学试剂有限公司,10006818)、异丙醇(国药集团化学试剂有限公司,80109218)、EDTA(国药集团化学试剂有限公司,10009617)、CCK-8试剂(Abbkine公司,BMU106)、天狼星红染料(海德创业生物科技公司,26357-02)、伊红染料(BASO公司,BA-4024)、苏木精染液(BASO公司,C210101)、DEPC水(生工生物工程有限公司,B501005-0500)、Transcriptor HiScript Ⅲ RT SuperMix for qPCR(+gDNA wiper)(Vazyme公司,R323-01)、DTT(Amresco公司,M107-500g)、BCA蛋白定量试剂盒(Thermo公司,23227)、Anp(ABclonal公司,A14755)、Bnp(ABclonal公司,A23996)、GAPDH(CST公司,CST2118)、TransZol Up Plus RNA套件(TransGen公司,ER501-01)、RNAClean XP套件(Beckman公司,A63987)、RNase-Free DNase套件(QIAGEN公司,79254)

1.1.3　仪器　独立送回风净化笼具(苏杭科技器材有限公司)、荧光显微镜(Nikon公司,ECLIPSE 80i)、多功能染色机(Leica公司,ST5020-CV5030)、台式离心机(Thermo公司,LEGNED MICRO17)、Aperio Versa 200数字扫描仪(Leica公司,BOND RXm)、凝胶成像系统(Bio-Rad公司,ChemiDocTMXRS+)、实时定量PCR仪(Roche公司,LightCycler®480 Ⅱ)。

1.2　实验方法

1.2.1　CCK-8细胞活性实验　为评估Telaglenastat对正常心肌细胞的潜在毒性,采用CCK-8试剂盒检测细胞活性。将人源心肌细胞系AC16和大鼠心肌细胞系H9C2以适宜密度接种于96孔板,在37 ℃、5% CO_2培养箱中培养过夜使其贴壁。次日,吸弃原培养基,更换为含有不同浓度Telaglenastat(1、5、10、50 μmol/L)或等体积溶剂DMSO的新鲜完全培养基,每个浓度设置5个复孔。药物处理相应时间后,每孔加入10 μL CCK-8溶液,于培养箱中继续孵育2 h。随后,使用酶标仪在450 nm波长下测定各孔的吸光度(Optical density,OD)。以DMSO为对照组。

1.2.2　大鼠原代心肌细胞分离培养及苯肾上腺素(Phenylephrine,PE)刺激　取1~3 d龄SD大鼠,用于原代心肌细胞的分离。实验前对器械进行灭菌处理,并用75%乙醇擦拭乳鼠胸前皮肤。打开胸腔,暴露并取出心脏,将其剪成1 mm×1 mm的均匀组织块。剪碎的组织块置于1.25%胰蛋白酶溶液中,于37 ℃培养箱内消化直至组织块消失。消化后的细胞悬液经40 μm细胞筛过滤,随后以1 500 r/min离心8 min。所得细胞沉淀用红细胞裂解液处理2 min,再次以1 500 r/min离心8 min。最终沉淀加入适量培养基重悬,进行细胞计数并接种于培养板中。培养过夜后观察细胞贴壁状况,次日更换新鲜培养基,并加入25 μmol/L PE刺激48 h,以诱导心肌细胞发生体外肥大反应。根据处理方式进行分组,对照组(DMSO+PBS组)给予等体积PBS及溶剂对照DMSO处理,模型组(DMSO+PE组)给予25 μmol/L PE及溶剂对照DMSO处理。Telaglenastat处理组(Telaglenastat+PE组):在PE刺激基础上,分别加入不同浓度(2.5 μmol/L和5 μmol/L)Telaglenastat进行处理。

1.2.3　动物压力超负荷诱导的心肌肥厚模型构建及给药处理　雄性C57BL/6J小鼠30只,5只1笼饲养于恒温(22±2) ℃、恒湿(55±5)%、人工光照明暗各12 h的饲养室内,标准饲料和自来水随机取食。

将小鼠适应性饲养1周后,随机分为4组:假手术+溶剂组(Sham+Vehicle组)、假手术+给药组(Sham+Telaglenastat组)、TAC手术+溶剂组(TAC+Vehicle组)及TAC手术+给药组(TAC+Telaglenastat组)。Sham+Vehicle组和Sham+Telaglenastat组每组5只。TAC+Vehicle组和TAC+Telaglenastat组每组10只,在终点检测(超声、器官称重、病理染色等)时,最终纳入5只小鼠分析。

TAC+Vehicle组和TAC+Telaglenastat组采用主动脉弓缩窄术(Transverse aortic constriction,TAC)用于压力超负荷诱导的心肌肥厚模型。步骤如下:使用舒泰:赛拉嗪(4:1)0.03 mL/10 g对C57BL/6J小鼠进行麻醉。将小鼠固定在自动调节加热垫上,将体温保持在37 ℃。并以趾跖反射消失作为判断麻醉成功的指标。75%乙醇消毒左侧胸区皮肤。沿第2~3肋间行纵向切口,钝性分离皮下组织及肌肉层,小心打开胸腔以暴露主动脉弓。接着,使用精细解剖剪离断右锁骨以充分显露主动脉弓,仔细分离主动脉弓远端及其分支血管。横主动脉用7-0丝线和26

号针头横向结扎。针头取出后，胸壁使用6-0丝线缝合。待小鼠自主呼吸平稳且对疼痛刺激产生强烈反应后，拔除气管插管（若适用），将其单独放回预热笼具中进行术后监护，直至完全苏醒。Sham+Vehicle组和Sham+Telaglenastat组进行了类似手术，但未进行主动脉结扎。

Sham+Telaglenastat组和TAC+Telaglenastat组：Telaglenastat使用20%羟丙基-β-环糊精配制。于术后第3 d开始，每天固定时间按200 mg/kg剂量（按10 mL/kg给药体积折算，约为57 400 μmol/L，给药剂量参考Telaglenastat在临床前肿瘤研究中的常用方案[23]）对小鼠进行灌胃给药。Sham+Vehicle组和TAC+Vehicle组给予等体积20%羟丙基-β-环糊精，持续至实验终点。

1.2.4 总RNA提取及实时荧光定量PCR（RT-qPCR）检测 将4组原代心肌细胞离心收集后，加入1 mL Trizol进行充分裂解，持续10 min。随后4 ℃、12 000 r/min离心15 min，收集上清液，并按2∶1比例加入三氯甲烷，充分振荡混匀，于室温静置15 min。再次在相同条件下离心15 min，吸取上层水相约400 μL，加入等体积异丙醇，轻柔颠倒使其混合，并于室温静置15 min。之后4 ℃、12 000 r/min离心15 min，弃去上清，加入500 μL 75%乙醇洗涤沉淀，轻摇混匀后，在4 ℃、7 500 r/min离心5 min，此洗涤步骤重复2次。随后吸净残留乙醇，室温下静置干燥，直至沉淀变为半透明状。最后每管加入10 μL DEPC水溶解沉淀，置于冰上备用。使用微量分光光度计检测RNA浓度和纯度。

取2 μg总RNA，加入4 μL 4×gDNA wiper去除基因组DNA，并用RNase-Free H_2O将总体积补充至16 μL，充分混匀后，于42 ℃反应2 min。接着加入4 μL 5×HiScript Ⅲ qRT SuperMix，混匀后置于50 ℃反应1 h，随后85 ℃处理5 s，完成cDNA反转录合成。将得到的cDNA样品用无菌水稀释5倍，作为后续定量PCR模板。

配制RT-qPCR反应体系：10 μL 2×ChamQ SYBR qPCR预混液，2 μL稀释后的cDNA模板，正、反向引物各1 μL，补充无菌水至总反应体系20 μL。充分混匀后瞬时离心，分装至384孔板，每孔加入10 μL反应液，封膜后离心，然后置于实时荧光定量PCR仪中运行程序。反应结束后，根据Ct值，采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算各目的基因相对于内参基因的表达水平。相关引物序列见表1。

表1 基因引物序列

基因	引物序列（5′→3′）
Rat *Anp*	Forward：TGGGACCCCTCCGATAGATC
	Reverse：CAATCCTACCCCCGAAGCAG
Rat *Bnp*	Forward：CCTTCCGGATCCAGGAGAGA
	Reverse：AAAACAACCTCAGCCCGTCA
Rat *Gapdh*	Forward：GCTGAGAATGGGAAGCTGGT
	Reverse：GCCTTCTCCATGGTGGTGAA

1.2.5 蛋白免疫印迹实验（Western blot） 处理后的原代心肌细胞收集于EP管，加入含有蛋白酶抑制剂的RIPA缓冲液，冰上裂解10 min后进行超声破碎。裂解液在4 ℃、12 000 r/min离心15 min，所得上清液用于BCA试剂盒法蛋白浓度定量。依据定量结果，加入上样缓冲液和DTT配制成等浓度蛋白样品，于金属浴中95 ℃变性15 min。蛋白样品经8%或12% SDS-PAGE 15孔胶在120 V恒压下分离，随后在300 mA恒流下转膜60 min至PVDF膜。膜采用10%脱脂牛奶的TBST封闭30 min，弃封闭液后，TBST洗涤3次（每次5 min）。一抗按适当比例稀释后，4 ℃孵育过夜。次日移除一抗，TBST洗涤3次（每次5 min）。二抗以1∶10 000比例用5%脱脂牛奶稀释，室温孵育1 h，弃液后TBST洗涤3次（每次5 min）。蛋白信号通过Chemi Doc MP成像系统检测。

1.2.6 超声心动图检测 TAC手术动物造模4周后，对小鼠进行心脏多普勒超声检查以评估心脏功能。通过异氟烷面罩吸入进行麻醉（以浓度1%～2%，流量为1.5～2.0 L/min异氟烷维持），使用配备20 MHz线性阵列超声换能器的VINNO D860 LAB VET飞依诺机器进行超声心动图检测，在M模式下记录小鼠左心室舒张末期内径和左心室收缩末期内径并计算左心室缩短分数（Fractional shortening，FS），再测量左心室射血分数（Ejection fraction，EF），每只小鼠连续测量3个周期并以此计算FS和EF。

1.2.7 动物取材相关数据测量方法 ⑴心脏重量体重比（Heart weight to body weight ratio，HW/BW）：小鼠经麻醉后记录体重（BW，单位：g）。取材后，完整分离心脏，清除大血管及周围脂肪组织，用预冷生理盐水冲洗并用滤纸吸干，称量心脏湿重（HW，单位：mg）。按公式HW/BW计算。测量心脏大小时，将毫米刻度尺（最小刻度1 mm）置于心脏下方，确保刻度线清晰。

⑵肺重量体重比（Lung weight to body weight

ratio，LW/BW）：完整分离双肺，清除气管及周围结缔组织，用预冷生理盐水漂洗、滤纸吸干后称量肺湿重（LW，单位：mg）。按公式LW/BW计算。

⑶心脏重量与胫骨长度比（Heart weight to tibia length ratio，HW/TL）：取一侧后肢分离胫骨，清除附着软组织，使用游标卡尺测量胫骨长度（TL，单位：mm）。按公式HW/TL计算。

1.2.8　心脏组织病理学检测　超声检测完成后称重，摘取心脏并置于10%氯化钾溶液中，使其于舒张期停搏。用生理盐水清洗后，将心脏固定于10%福尔马林中，后经石蜡包埋、切片处理。对石蜡切片进行苏木精-伊红（Hematoxylin-eosin staining，HE）和天狼星红（Picrosirius red，PSR）染色并用数字扫描仪采集染色图像，分析心肌细胞横截面积和心肌纤维化的变化。

1.2.9　RNA测序与数据处理　为分析基因表达差异，提取DMSO+PE组与2.5 μmol/L Telaglenastat+PE组原代心肌细胞总RNA，每组3个独立的生物学重复。使用TransZol Up Plus RNA kit、RNAClean XP kit及RNase-Free DNase Set进行原代心肌细胞总RNA提取与纯化。纯化后的总RNA经mRNA分离、片段化、第一链与第二链cDNA合成、末端修复等步骤构建测序文库。文库采用单端测序策略，在MGISEQ-2000 RS测序仪上读取长度为50 bp。每次测序运行后均进行严格质量控制（Q30>85%），以确保数据可靠性。

使用HISAT2软件（默认参数）将测序读段比对至大鼠参考基因组（Rnor_6.0/RGSC 6.0）。比对结果文件通过SAMtools转换为BAM格式。采用StringTie（默认参数）计算每个基因的外显子模型，并以FPKM作为基因表达水平的标准化度量。

主成分分析（Principal component analysis，PCA）：基于所有样本的FPKM值，使用R包prcomp函数进行主成分分析。数据经过中心化和标准化（scale=TRUE）处理。PCA结果以二维散点图形式展示，每个点代表一个样本，横纵坐标分别为第一主成分和第二主成分，用以评估组内重复性与组间差异。

聚类分析：基于所有样本的FPKM值，采用无加权配对算术平均法计算样本间相似性，构建层次聚类树，并使用R包中的hclust函数（ward.D2链接方法，欧氏距离）进行可视化。

差异表达基因筛选：使用R包DESeq2（版本1.32.0）进行差异表达分析。采用Benjamini-Hochberg法控制错误发现率（False discovery rate，FDR）。差异基因筛选阈值：$|\log_2(\text{Fold Change})|>\log_2(1.5)$（即$|\log_2 \text{Fold Change}|>0.585$）且校正后$P<0.05$。

基因集富集分析（Gene set enrichment analysis，GSEA）：按差异表达水平（$\log_2$FoldChange）对基因进行降序排序。采用Java GSEA软件（版本4.1.0）进行预排序GSEA，以“Signal2Noise”为排序指标，基因集来源于基因本体论（Gene ontology，GO）数据库。与常规GSEA不同，本研究中未对基因集大小进行过滤（即未排除过小或过大的基因集）。显著性阈值：名义$P<0.05$，且FDR校正后的$q<0.25$。该阈值设置较常规（通常$q<0.05$）更宽松，以发现潜在功能富集信号。

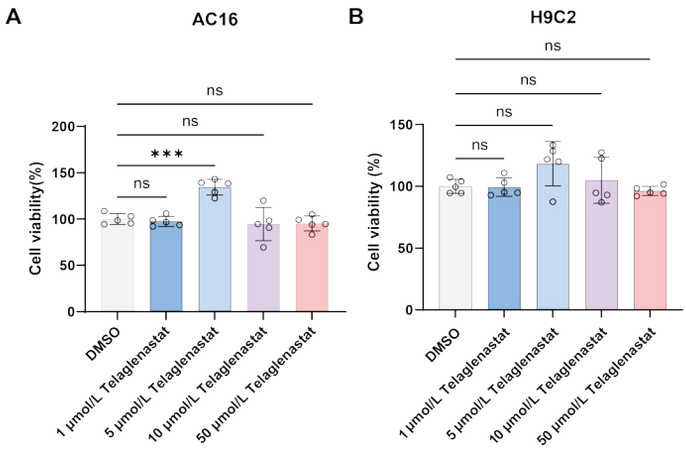
使用pheatmap绘制热图。表达谱数据经过Z-score标准化处理，以消除基因间表达丰度的基数差异，颜色由红到蓝反映了基因在各样本中相对表达水平的高低。

1.3　统计学处理　数据使用GraphPad Prism 9.5软件进行统计学分析与作图。计量资料以$\bar{x}\pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析。检验水准$\alpha=0.05$。

2　结果

2.1　Telaglenastat对正常心肌细胞无明显细胞毒性　为评估Telaglenastat对正常心肌细胞的潜在毒性作用，我们检测了体外人源心肌细胞系AC16和大鼠心肌细胞系H9C2。细胞分别经不同浓度（1、5、10、50 μmol/L）的Telaglenastat或等体积溶剂DMSO处理，通过CCK-8法检测细胞活性。结果显示，在AC16细胞中，与DMSO对照组相比，除5 μmol/L浓度Telaglenastat的细胞活性差异有统计学意义外（$P<0.001$），其他浓度Telaglenastat处理后细胞活性均无明显抑制趋势（$P>0.05$）（图1A）。在H9C2细胞中，与DMSO对照组相比，不同浓度Telaglenastat处理后细胞活性均无明显抑制趋势（$P>0.05$）（图1B）。该结果表明，Telaglenastat对正常心肌细胞无明显细胞毒性。

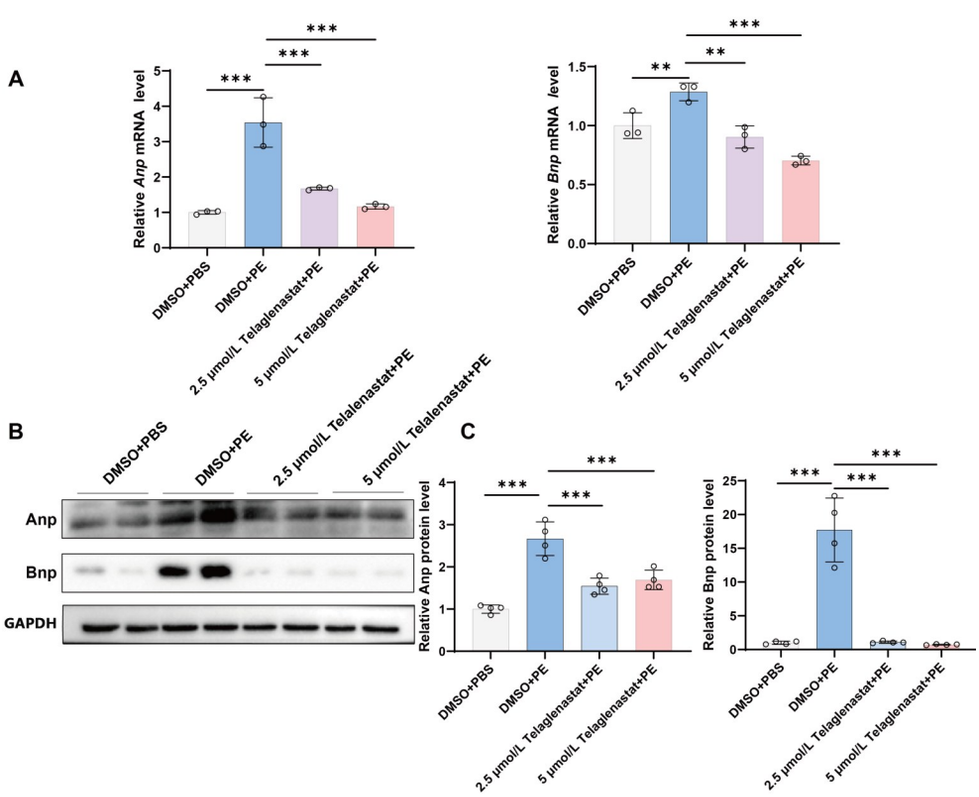
2.2　Telaglenastat显著抑制PE诱导的心肌肥厚标志物表达　为进一步探究Telaglenastat对心肌细胞肥大表型的影响，我们用不同浓度Telaglenastat处理PE刺激后的原代心肌细胞。RT-qPCR结果显示



A:CCK-8实验检测不同浓度Telaglenastat对人心肌细胞AC16的毒性作用;B:CCK-8实验检测不同浓度Telaglenastat对大鼠心肌细胞H9C2的毒性作用。***P<0.001;ns:差异无统计学意义。

图1 Telaglenastat对H9C2和AC16心肌细胞活力的影响

(图2A),与DMSO+PBS组相比,DMSO+PE组显著上调了心肌肥厚标志物*Anp*和*Bnp*基因的mRNA表达水平(P<0.001)。而与DMSO+PE组相比,不同浓度(2.5、5 μmol/L)的Telaglenastat+PE组中可剂量依赖性抑制*Anp*和*Bnp*基因mRNA的表达水平升高(P<0.01)。Western blot结果显示(图2B和2C),与DMSO+PBS组相比,DMSO+PE组显著提高了Anp和Bnp的蛋白表达水平,而2个浓度Telaglenastat+PE组则能逆转这一效应(P<0.001)。

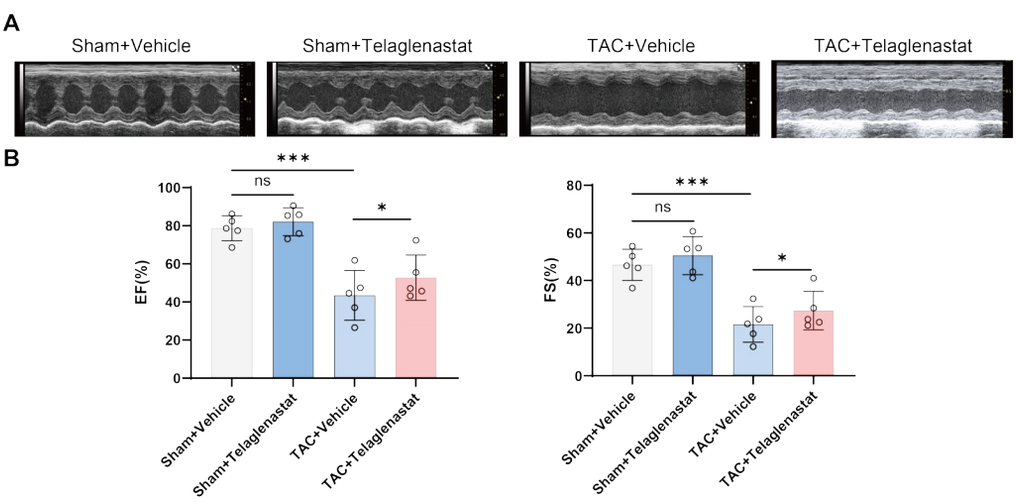


A:RT-qPCR检测原代心肌细胞不同处理后心肌肥厚基因(*Anp*和*Bnp*)的表达水平;B:Western blot检测原代心肌细胞不同处理后心肌肥厚蛋白(Anp和Bnp)的表达水平;C:蛋白定量统计图。**P<0.01,***P<0.001。

图2 Telaglenastat对PE诱导的大鼠原代心肌细胞中心肌肥厚标志物的作用

2.3　Telaglenastat 处理显著改善 TAC 手术诱导的小鼠病理性心肌肥厚及心脏收缩功能受损　为进一步在动物水平评价 Telaglenastat 对病理性心肌肥厚的治疗作用，我们采用 C57BL/6J 小鼠构建压力超负荷模型，术后 4 周，通过小动物超声仪检测心功能。结果如图 3 所示，与 Sham+Vehicle 组相比，TAC+Vehicle 组小鼠心脏收缩功能显著受损，表现为 EF 和 FS 明显降低（$P<0.001$），表明 TAC 模型构建成功。在 TAC 模型下，与 TAC+Vehicle 组比较，TAC+Telaglenastat 组小鼠的 EF 和 FS 显著上调（$P<0.05$），提示 Telaglenastat 处理可改善 TAC 手术导致的小鼠心脏收缩功能受损。与 Sham+Vehicle 组相比，Sham+Telaglenastat 组的 EF 和 FS 差异无统计学意义（$P>0.05$）。

2.4　Telaglenastat 改善 TAC 诱导的小鼠病理性心肌肥厚　进一步的组织形态学分析结果显示，与 Sham+Vehicle 组相比，TAC+Vehicle 组小鼠心脏体积增大，发生心肌肥厚。与 TAC+Vehicle 组相比，TAC+Telaglenastat 组中，TAC 手术导致的心脏肥大减轻（图 4A）。脏器指数分析显示，与 Sham+Vehicle 组相比，TAC+Vehicle 组小鼠的 HW/BW、LW/BW 与 HW/TL 均显著升高（$P<0.001$）。与 TAC+Vehicle 组相比，TAC+Telaglenastat 组 HW/BW、LW/BW 及 HW/TL 比值均显著下降（$P<0.01$）（图 4B）。Sham+Vehicle 组和 Sham+Telaglenastat 组比较，除 HW/BW 差异有统计学意义（$P<0.05$），其余指标差异均无统计学意义（$P>0.05$）。



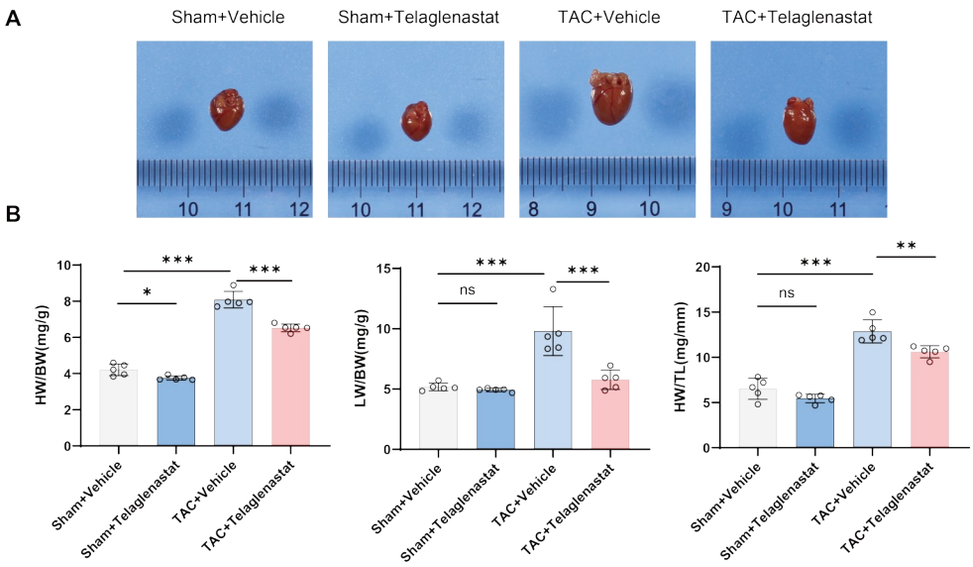
A：代表性超声心动图 M 型图像；B：心功能指标的定量分析。*$P<0.05$，***$P<0.001$；ns：差异无统计学意义。

图 3　Telaglenastat 治疗后 TAC 手术诱导的小鼠心脏收缩功能的超声数据

2.5　Telaglenastat 减轻 TAC 诱导的小鼠病理性心肌肥厚与纤维化　为进一步评估 Telaglenastat 对心脏病理的影响，我们对小鼠心脏组织进行了组织染色分析。HE 染色结果显示（图 5A），与 Sham+Vehicle 组相比，TAC+Vehicle 组心脏最大横截面明显增大、心室壁及室间隔增厚，呈现典型的病理性心肌肥厚形态；而 TAC+Telaglenastat 组心脏肥厚程度显著缓解。TAC+Telaglenastat 组小鼠心肌细胞面积较 TAC+Vehicle 组明显减小。PSR 染色结果显示，TAC+Telaglenastat 组相比 TAC+Vehicle 组红色胶原纤维明显减少（图 5B）。

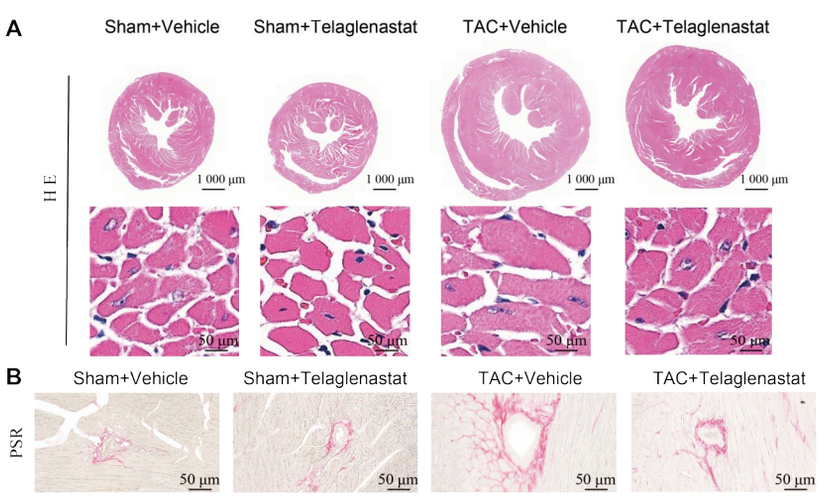
2.6　Telaglenastat 调控与心脏功能和肥厚相关的关键基因网络　为探究 Telaglenastat 保护心肌细胞的分子机制，我们对 PE 刺激下的大鼠原代心肌细胞进行了 RNA 测序分析。PCA 图结果显示，DMSO+PE 组与 Telaglenastat+PE 组在聚类上呈现明显分离（图 6A）；差异基因火山图显示，与 DMSO+PE 组相比，Telaglenastat+PE 组筛选出 1 235 个上调基因和 977 个下调基因（图 6B）。通过 GSEA 进一步分析，相比于 DMSO+PE 组，Telaglenastat+PE 组心肌肥厚相关通路及基因表达水平下调（图 6C）。此外，热图结果显示，DMSO+PE 组相比 Telaglenastat+PE 组，药物治疗后炎症反应（图 6D）、纤维化（图 6E）及蛋白合成（图 6F）相关基因表达均呈现下调趋势。

2.7　Telaglenastat 可能通过激活线粒体自噬信号通路抑制心肌肥厚　为进一步探究 Telaglenastat 抑



A:各组代表性小鼠心脏大体标本;B:心脏重构相关生理指标的量化分析。*P<0.05,**P<0.01,***P<0.001;ns:差异无统计学意义。

图4 Telaglenastat治疗后TAC诱导的小鼠心肌肥厚相关组织形态及脏器指数



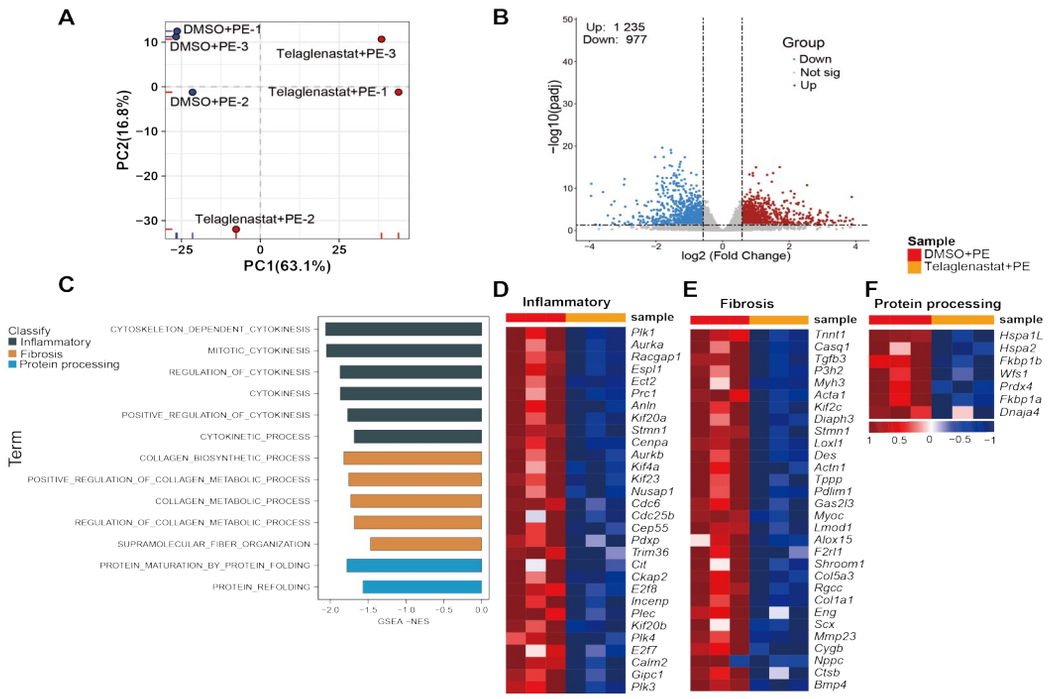
A:4组小鼠心肌组织形态学分析(HE染色);B:血管周围胶原沉积分析(PSR染色)。PSR染色可将胶原纤维染成红色。

图5 Telaglenastat对TAC诱导的心肌肥厚及心脏纤维化的影响

制心肌肥厚的潜在分子机制,我们对RNA测序数据进行GSEA分析。结果显示,DMSO+PE组与Telaglenastat+PE组差异基因显著富集于线粒体自噬通路(NES=-1.620 6,NOM P=0.008 6,FDR=0.097 1,图7A)。进一步对富集通路中的核心基因进行表达分析显示,与DMSO+PE组相比,Telaglenastat+PE组可特异性上调多个线粒体自噬关键基因(如*Pink1*、*Bnip3l*等)的表达(图7B)。

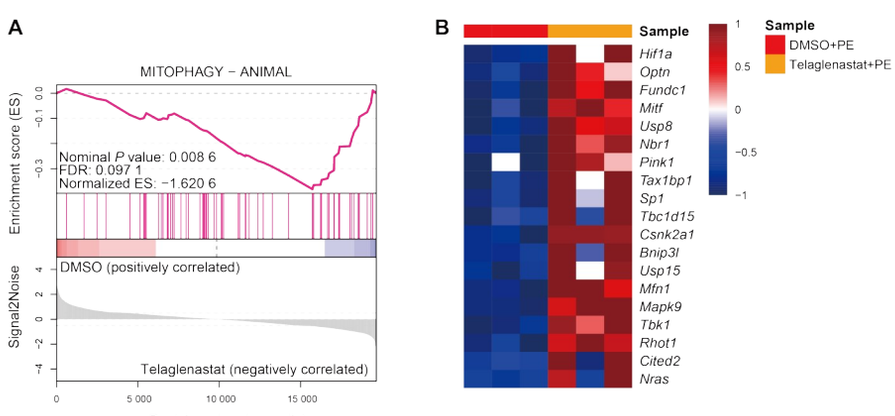
3 讨论

本研究探讨了谷氨酰胺酶1抑制剂Telaglenastat在病理性心肌肥厚中的作用。我们的体内外实验结果一致表明,Telaglenastat能够有效抑制压力超负荷诱导的心肌细胞肥大和心脏重构,显著改善心功能。其保护作用在细胞和动物模型中得到验证,并初步揭示了其作用机制可能与激活心肌细胞线粒体自噬通路有关。这些发现拓展了Telaglenastat的药理作用谱,为病理性心肌肥厚和心力衰竭的治疗提供了新的潜在药物候选分子和作用机制思路。



A：转录组样本测序数据的 PCA 图；B：基因表达火山图；C：心肌肥厚表型相关的 GSEA 通路富集图；D：心肌肥厚表型相关的炎症基因集热图；E：心肌肥厚表型相关的纤维化基因集热图；F：心肌肥厚表型相关的蛋白合成基因集热图。

图 6　转录组学分析 Telaglenastat 对 PE 诱导的大鼠原代心肌细胞的影响



A：线粒体自噬通路富集的积分图；B：DMSO+PE 组与 Telaglenastat+PE 组线粒体自噬相关基因表达热图。红色表示高表达，蓝色表示低表达。

图 7　转录组学分析 Telaglenastat 对 PE 诱导的大鼠原代心肌细胞线粒体自噬通路的相关通路及基因的影响

本研究的核心理论价值在于，将一种已知的抗肿瘤代谢药物与心力衰竭治疗靶点联系起来，揭示了靶向谷氨酰胺代谢通路在心血管疾病的潜在治疗意义[24]。Telaglenastat 作为一种口服的谷氨酰胺酶 1 抑制剂，其作用机制主要是切断肿瘤细胞通过谷氨酰胺代谢获取能量和生物合成前体的途径，从而抑制肿瘤生长。我们在此基础上的研究发现，该化合物同样能有效对抗心肌肥厚，其中的代谢相关作用，也可能在病理性心肌重构中扮演关键角色。我们的转录组学分析为这一假设提供了初步支持，结果显示，Telaglenastat 处理后，与心脏炎症、纤维化、蛋白质合成等病理性肥厚相关表型的基因表达水平普遍下调。更为关键的是，GSEA 分析发现线粒体自噬通路被显著富集和激活，这表明 Telaglenastat

可能通过清除功能失调的线粒体、改善心肌细胞的能量代谢稳态和氧化应激水平，进而发挥心脏保护作用。

本研究表明，Telaglenastat的保护作用与其调控细胞自噬密切相关。自噬在心肌肥厚中的作用具有双重性与复杂性：在生理状态下，自噬通过清除受损细胞器（如线粒体）和错误折叠蛋白，维持细胞内稳态与能量平衡，发挥保护性作用；而在病理性压力下，自噬功能往往受损或失调，其水平下降或功能障碍会加速心肌细胞的病理性重构[25]。增强自噬流有助于缓解病理性心肌肥厚。本研究通过转录组学分析发现，Telaglenastat处理后线粒体自噬通路显著富集，提示其可能通过恢复心肌细胞在压力负荷下的自我清洁与质量控制能力，从而抑制心肌肥大与纤维化的进展。本研究结果与既往自噬调控剂的研究既有相似之处，也存在差异。例如，氧化苦参碱在小鼠心肌肥厚模型中被证实可改善线粒体功能障碍并调节自噬活性，通过靶向线粒体-自噬轴发挥保护作用[26]。而雷帕霉素作为经典的mTOR抑制剂，通过激活自噬减轻心肌肥厚，但其作用范围较广，脱靶效应明显[27]。相比之下，Telaglenastat作为谷氨酰胺酶1特异性抑制剂，其自噬调控作用可能源于激发线粒体自噬以应对应激适应，也可能作用于自噬核心通路相关分子。这或许可以解释为何Telaglenastat在较低剂量下即可实现心脏保护。然而，不同药物对自噬的调控方向及效应强度取决于具体分子背景、给药窗口及病理阶段，这提示未来在自噬靶向治疗策略中需精细区分恢复自噬稳态与非特异性激活自噬之间的界限。氯沙坦等药物也能改善线粒体自噬，但这是其逆转心室重塑、降低氧化应激的下游间接效应，而非直接靶点[28-29]。相比之下，Telaglenastat可以激活线粒体自噬通路，靶向性更明确。

本研究存在一定局限性：⑴线粒体自噬的调控涉及Pink1、Bnip3l等多条信号通路，Telaglenastat具体通过何种上游信号节点精确调控线粒体自噬，目前尚未明确。⑵本研究主要通过转录组学分析发现Telaglenastat处理后线粒体自噬相关基因集显著富集，缺乏对自噬流、线粒体自噬体形成等关键功能环节的直接验证，如电镜观察自噬体结构、LC3-Ⅱ/Ⅰ转换、p62降解以及线粒体标记蛋白与溶酶体共定位等实验。因此，Telaglenastat是否直接通过激活线粒体自噬抑制心肌肥厚，仍需后续功能性实验加以验证。⑶本研究未进行系统的剂量-效应关系探索，体内实验采用单一给药剂量，未来研究需明确其最佳治疗窗。同时，本研究仅在原代心肌细胞和小鼠模型中验证了Telaglenastat的作用，尚未深入探究自噬调控的具体分子机制，后续需在更多临床前模型中进一步评价。未来研究应结合自噬双荧光报告系统（如mRFP-GFP-LC3）、透射电子显微镜观察自噬体超微结构以及利用自噬关键基因的敲除或敲低模型，进一步明确Telaglenastat调控线粒体自噬的分子机制。上述问题的阐明将是后续研究的重点方向。

本研究成功将Telaglenastat的应用从肿瘤代谢领域拓展至心血管领域，初步证实其通过调控细胞自噬（特别是线粒体自噬）有效缓解病理性心肌肥厚。这一发现不仅为心力衰竭治疗提供了新的候选药物，更重要的是，通过阐明一种已知肿瘤代谢调节剂在心脏保护中的作用，为深入理解心肌肥厚的发生发展机制提供了独特的代谢视角。

所有作者均声明不存在利益冲突关系。

参考文献：

[1] Groenewegen A, Rutten F H, Mosterd A, et al. Epidemiology of heart failure[J]. Eur J Heart Fail, 2020, 22(8): 1342-1356.

[2] Huang X, Yin S, Yao M, et al. Natural and built environments and heart failure risk: an exposome-wide analysis in the UK Biobank[J]. Environ Res, 2025, 287: 123031.

[3] Zhang X J, Liu X, Hu M, et al. Pharmacological inhibition of arachidonate 12-lipoxygenase ameliorates myocardial ischemia-reperfusion injury in multiple species[J]. Cell Metab, 2021, 33(10): 2059-2075.

[4] Li M, Wang H, Zhang X J, et al. NAFLD: an emerging causal factor for cardiovascular disease[J]. Physiology (Bethesda), 2023, 38(6): 255-265.

[5] Li P L, Liu H, Chen G P, et al. STEAP3 (six-transmembrane epithelial antigen of prostate 3) inhibits pathological cardiac hypertrophy[J]. Hypertension, 2020, 76(4): 1219-1230.

[6] Nakamura M, Sadoshima J. Mechanisms of physiological and pathological cardiac hypertrophy[J]. Nat Rev Cardiol, 2018, 15(7): 387-407.

[7] Deng K Q, Li J, She Z G, et al. Restoration of circulating MFGE8 (milk fat globule-EGF factor 8) attenuates cardiac hypertrophy through inhibition of Akt pathway

[J]. Hypertension, 2017,70(4):770-779.
[8] Liu J, Li W, Deng K Q, et al. The E3 ligase TRIM16 is a key suppressor of pathological cardiac hypertrophy[J]. Circ Res,2022,130(10):1586-1600.
[9] Zhao G J, Zhao C L, Ouyang S, et al. Ca^{2+}-dependent NOX5 (NADPH oxidase 5) exaggerates cardiac hypertrophy through reactive oxygen species production[J]. Hypertension,2020,76(3):827-838.
[10] Mahmoud A,Senka L H,Frank M, et al. Autophagy in cardiovascular health and disease[J]. Prog Mol Biol Transl Sci,2020,172:87-106.
[11] Yamaguchi O. Autophagy in the heart[J]. Circ J,2019,83(4):697-704.
[12] Ghosh R, Pattison J S. Macroautophagy and chaperone-mediated autophagy in heart failure: the known and the unknown[J]. Oxid Med Cell Longev, 2018, 2018:8602041.
[13] Tang Y, Xu W, Liu Y, et al. Autophagy protects mitochondrial health in heart failure[J]. Heart Fail Rev, 2024,29(1):113-123.
[14] Gao M, Hu F, Hu M, et al. Sophoricoside ameliorates cardiac hypertrophy by activating AMPK/mTORC1-mediated autophagy[J]. Biosci Rep, 2020, 40(11): BSR20200661.
[15] Li A, Gao M, Liu B, et al. Mitochondrial autophagy: molecular mechanisms and implications for cardiovascular disease[J]. Cell Death Dis,2022,13:444.
[16] Ba L, Gao J, Chen Y, et al. Allicin attenuates pathological cardiac hypertrophy by inhibiting autophagy *via* activation of PI3K/Akt/mTOR and MAPK/ERK/mTOR signaling pathways[J]. Phytomedicine,2019,58:152765.
[17] Liu B Y, Li L, Liu G L, et al. Baicalein attenuates cardiac hypertrophy in mice *via* suppressing oxidative stress and activating autophagy in cardiomyocytes[J]. Acta Pharmacol Sin,2021,42(5):701-714.
[18] Wang Z, Shi W, Wu T, et al. A high-throughput drug screening identifies luteolin as a therapeutic candidate for pathological cardiac hypertrophy and heart failure[J]. Front Cardiovasc Med,2023,10:1130635.
[19] Liu X, Li H, Hastings M H, et al. miR-222 inhibits pathological cardiac hypertrophy and heart failure[J]. Cardiovasc Res,2024,120(3):262-272.
[20] Tarrado-Castellarnau M, Foguet C, Tarragó-Celada J, et al. Glutaminase as a metabolic target of choice to counter acquired resistance to Palbociclib by colorectal cancer cells[J]. Oncogene,2025,44(36):3386-3406.
[21] Lee C H, Motzer R, Emamekhoo H, et al. Telaglenastat plus everolimus in advanced renal cell carcinoma: a randomized, double-blinded, placebo-controlled, phase Ⅱ ENTRATA trial[J]. Clin Cancer Res,2022,28(15):3248-3255.
[22] Wicker C A, Hunt B G, Krishnan S, et al. Glutaminase inhibition with telaglenastat (CB-839) improves treatment response in combination with ionizing radiation in head and neck squamous cell carcinoma models[J]. Cancer Lett,2021,502:180-188.
[23] Gross M I, Demo S D, Dennison J B, et al. Antitumor activity of the glutaminase inhibitor CB-839 in triple-negative breast cancer[J]. Mol Cancer Ther, 2014, 13(4):890-901.
[24] Zheng X L, Yin H, Tang Z, et al. Glutaminase 1 in vascular disease: linking metabolic reprogramming to atherosclerosis progression and stability[J]. J Cardiovasc Transl Res,2026,19(1):41.
[25] Calle X, Garrido-Moreno V, Becerra B, et al. 17-beta estradiol prevents cardiac myocyte hypertrophy by regulating mitochondrial E3 ubiquitin ligase 1[J]. Cell Death Dis,2025,16(1):111.
[26] Lu D, Wu S, Wang X, et al. Oxymatrine alleviates ALD-induced cardiac hypertrophy by regulating autophagy *via* activation Nrf2/SIRT3 signaling pathway[J]. Phytomedicine,2025,138:156389.
[27] Paoletti E. mTOR inhibition and cardiovascular diseases: cardiac hypertrophy[J]. Transplantation,2018,102(2S Suppl 1):S41-S43.
[28] Kiss K, Fekete V, Pálóczi J, et al. Renin-angiotensin-aldosterone signaling inhibitors-losartan, enalapril, and cardosten-prevent infarction-induced heart failure development in rats[J]. Altern Ther Health Med,2016,22(2):10-17.
[29] Martínez-Arias L, Fernández-Villabrille S, Alonso-Montes C, et al. Effects of a losartan-antioxidant hybrid (GGN1231) on vascular and cardiac health in an experimental model of chronic renal failure[J]. Nutrients, 2023,15(8):1820.

(收稿:2026-01-23)(修回:2026-04-02)
(责任编辑:何明)