

本文引用: 徐丹,董朝阳,郭睿,郭冰,毛以林. 基于心康冲剂调控慢性心力衰竭大鼠 JAK2/STAT3 通路抗心肌纤维化的作用机制[J]. 湖南中医药大学学报, 2023, 43(8): 1388-1393.

基于心康冲剂调控慢性心力衰竭大鼠 JAK2/STAT3 通路 抗心肌纤维化的作用机制

徐丹^{1,2},董朝阳^{1,2},郭睿^{1,2},郭冰^{1,2},毛以林^{2*}

1.湖南中医药大学,湖南长沙 410208;2.湖南中医药大学第二附属医院,湖南长沙 410005

[摘要] **目的** 探讨心康冲剂抗慢性心力衰竭大鼠心肌纤维化的机制。**方法** 48只雄性SD大鼠随机均分为正常组、模型组、心康冲剂治疗组(治疗组)、缬沙坦对照组(缬沙坦组)。除正常组外,其余各组经腹腔注射注射用盐酸多柔比星 1.5 mg/kg 制造慢性心力衰竭大鼠模型。治疗组给与 1.2 g/(kg·d)心康冲剂;缬沙坦组给与 1.62 mg/(kg·d)缬沙坦胶囊;正常组、模型组给予等体积灭菌注射用水灌胃。每日1次,连续灌胃8周。以超声心动图检测大鼠心功能[左室射血分数(left ventricular ejection fractions, LVEF)、左心室短轴缩短率(left ventricular fractional shortening, LVFS)],Masson 染色观察心肌纤维化,RT-qPCR 法检测心肌组织 I 型胶原(collagen I, Col I)mRNA 表达水平,Western blot 法检测心肌 Col I、磷酸化酪氨酸激酶 2(phospho-Janus kinase, p-JAK2)、磷酸化信号转导和转录激活子 3(phospho-signal transducer and activator of transcription 3, p-STAT3)的蛋白含量。用 Pearson 相关及线性回归分析 Col I、p-JAK2、p-STAT3 与左室收缩末期直径(left ventricular end systolic diameter, LVESD)之间的相关性。**结果** 与正常组比较,模型组大鼠 LVEF、LVFS 显著下降($P<0.01$);与模型组比较,治疗组大鼠 LVEF、LVFS 均升高($P<0.01$),LVESD 下降($P<0.01$),Col I mRNA 及蛋白含量均下降($P<0.05$, $P<0.01$),p-JAK2、p-STAT3 蛋白含量均下降($P<0.05$, $P<0.01$);与缬沙坦组比较,治疗组 LVEF、LVFS 升高($P<0.01$),p-STAT3 蛋白含量降低($P<0.05$),而 Col I mRNA、p-JAK2、Col I 蛋白含量差异无统计学意义($P>0.05$)。Col I、p-STAT3、p-JAK2 均与 LVESD 具有明显线性关系。**结论** 心康冲剂可通过下调 JAK2/STAT3 信号通路激活,降低 Col I mRNA 表达与 Col I 蛋白合成,从而抗慢性心力衰竭大鼠心肌纤维化。

[关键词] 慢性心力衰竭;心康冲剂;心肌纤维化;JAK2/STAT3 信号通路;I 型胶原

[中图分类号]R285.5 **[文献标志码]**A **[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2023.08.007

Mechanism of action of Xinkang Granule against myocardial fibrosis by regulating JAK2/STAT3 signaling pathway in rats with chronic heart failure

XU Dan^{1,2}, DONG Chaoyang^{1,2}, GUO Rui^{1,2}, GUO Bing^{1,2}, MAO Yilin^{2*}

1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. The Second Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410005, China

[Abstract] **Objective** To investigate the mechanism of Xinkang Granule (XKG) against myocardial fibrosis in rats with chronic heart failure (CHF). **Methods** Forty-eight male SD rats were randomly divided into normal group, model group, XKG treatment group (treatment group), valsartan control group (valsartan group). Except for the normal group, the other groups were injected intraperitoneally with doxorubicin hydrochloride 1.5 mg/kg to establish a rat model of CHF. Then, the treatment group was given XKG 1.2 g/(kg·d),

[收稿日期]2023-01-08

[基金项目]湖南省自然科学基金项目(2020JJ4473);湖南省中医药管理局重点科研项目(C2022004);湖南中医药大学 2022 一方研究生创新项目(2022YF07)。

[第一作者]徐丹,女,硕士研究生,研究方向:中医药防治心血管疾病。

[通信作者]*毛以林,男,教授,主任医师,博士研究生导师,E-mail:maoyilin8518@126.com。

the valsartan group was given valsartan capsules 1.62 mg/(kg·d), and the normal group and the model group were given equal volumes of sterilized water for injection. All the rats received gavage once daily, continuously for 8 weeks. The cardiac functions of rats including left ventricular ejection fractions (LVEF) and left ventricular fractional shortening (LVFS) were measured by echocardiography, myocardial fibrosis was observed by Masson staining, the mRNA expression level of collagen I (Col I) in myocardial tissue was examined by RT-qPCR, and the protein level of myocardial Col I, phospho-Janus kinase 2 (p-JAK2), phospho-signal transducer, and activator of transcription 3 (p-STAT3) were measured by Western blot. Moreover, Pearson's correlation and linear regression were used to analyze the correlation between Col I, p-JAK2, p-STAT3, and left ventricular end systolic diameter (LVESD). **Results** Compared with the normal group, LVEF and LVFS in the model group significantly decreased ($P<0.01$); compared with the model group, LVEF and LVFS in the treatment group increased ($P<0.01$), LVESD decreased ($P<0.01$), and the mRNA expression and protein level of Col I as well as the protein levels of p-JAK2 and p-STAT3 were reduced ($P<0.05$, $P<0.01$); compared with the valsartan group, LVEF and LVFS in the treatment group were higher ($P<0.01$), but the protein level of p-STAT3 was lower ($P<0.05$), and there was no significant difference in Col I mRNA expression and the protein levels of p-JAK2 and Col I ($P>0.05$). Col I, p-STAT3, and p-JAK2 all had obvious linear relationships with LVESD. **Conclusion** XKG can inhibit myocardial fibrosis in rats with chronic heart failure by down-regulating the activation of JAK2/STAT3 signaling pathway and reducing the mRNA expression and protein synthesis of Col I.

[**Keywords**] chronic heart failure; Xinkang Granule; myocardial fibrosis; JAK2/STAT3 signaling pathway; collagen I

慢性心力衰竭(chronic heart failure, CHF)是由于各种器质性或功能性的心脏疾病导致心功能不全,进而引起的一种临床综合征,是心脏疾病的终末阶段^[1]。心力衰竭(简称心衰)时心脏负荷增加,心肌出现代偿性肥厚,表现为心肌胶原纤维沉积,心肌舒张和收缩僵硬异常,心肌顺应性下降^[2],即出现心肌纤维化。Janus 蛋白酪氨酸激酶 2/信号转导和转录激活子 3(Janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3, JAK2/STAT3)信号通路的激活能调控心肌成纤维细胞的增殖、转移,使胶原蛋白过度沉积,从而影响心肌纤维化的发生发展^[3]。JAK2 磷酸化后可进一步使 STAT3 磷酸化^[4],磷酸化后的 STAT3 可以上调 I 型胶原蛋白(collagen I, Col I)合成^[5],促进纤维化的发生发展。

心康冲剂(Xinkang Granule, XKG)是第七批全国老中医药专家学术经验继承工作指导老师、湖南省名老中医毛以林教授以《医学衷中参西录》之升陷汤、《伤寒论》之真武汤、苓桂术甘汤及时方参苓白术散、五皮饮为基础,融合化裁而出,具有“升补心肺宗气、温补脾肾阳气、利水渗湿”的功效,针对 CHF 后期“宗气下陷、脾肾阳虚、水饮内停”病机而设^[6]。本实验通过腹腔注射盐酸多柔比星建立心衰模型,采用心康冲剂进行干预,与缙沙坦进行对照,研究心康冲剂调控 CHF 大鼠 JAK2/STAT3 信号通路激活抗心肌纤维化的作用机制,现报道如下。

1 材料

1.1 实验动物

48 只健康雄性 SPF 级 SD 大鼠,购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司(实验动物合格证编号:

430727221100402072),体质量 180~200 g。动物饲养于湖南中医药大学实验动物中心,室内温度(24±2)℃,相对湿度 50%~70%。大鼠均自由摄食、饮水,适应性喂养 1 周后开始实验。此实验由湖南中医药大学动物实验伦理委员会审核批准,伦理编号:LL2022030302。

1.2 主要药品及试剂

注射用盐酸多柔比星(浙江海正药业股份有限公司,批号:H33021979);缙沙坦胶囊(北京诺华制药有限公司,批号:H20040217);心康冲剂(广东一方制药有限公司);PCR 引物(由北京擎科生物科技股份有限公司合成);mRNA、miRNA 逆转录试剂盒、UltraSYBR Mixture、DM2000 Plus DNA Marker(中国北京康为世纪,货号:CW2569、CW2141、CW2601、CW0632);Trizol 试剂盒(美国 Thermo 公司,货号:15596026);核酸染料(中国北京普利莱基因技术有限公司,货号:PB11141);抗体:Col I、GAPDH(美国 Proteintech 公司,货号:14695-1-AP、10494-1-AP)、p-JAK2、p-STAT3(英国 Abcam 公司,货号:ab32101、ab76315);二抗 Goat anti-Rabbit IgG (H+L) Secondary Antibody, HRP(中国 Abiowell 公司,货号:AWS0002b);Masson 染色试剂盒(上海威奥生物科技有限公司,货号:AWI0253a)。

1.3 主要仪器

便携式彩色多普勒超声仪(飞依诺科技股份有限公司,型号:VINNO6LAB);荧光定量 RCP 仪(美国 ABI 公司,型号:QuantStudio1);化学发光成像系统(中国上海勤翔科学仪器有限公司,型号:ChemiScope6100);台式高速冷冻离心机(中国湖南湘仪,型号:H1650R);显微镜(Motic,型号:BA210T)。

2 方法

2.1 动物分组及造模

动物适应性饲养 1 周后,随机取 12 只作为正常组,其余大鼠进行造模。有研究证实,阿霉素可通过 JAK/STAT 信号通路诱导大鼠左心室细胞死亡和纤维化^[7]。故本实验选用阿霉素进行造模,造模方法同文献^[8],大鼠按 1.5 mg/kg 阿霉素腹腔注射,每周 2 次,共 7 周^[9]。以大鼠出现皮毛枯槁、竖立、踣卧扎堆、缩肩拱背、行动迟缓、精神萎靡、尾凉暗淡、腹水等症状,以及超声心动图检测左心室短轴缩短率(left ventricular fractional shortening, LVFS) $<30\%$ ^[10],为心力衰竭造模成功的标志。36 只成模大鼠再按随机数字表法分为阿霉素模型组(模型组)、心康冲剂治疗组(治疗组)、缬沙坦对照组(缬沙坦组),每组 12 只。

2.2 药物制备及给药

心康冲剂组成:白参 10 g,黄芪 30 g,柴胡 5 g,升麻 5 g,桔梗 5 g,茯苓 15 g,薏苡仁 30 g,生姜皮 10 g,大腹皮 10 g,陈皮 10 g,桂枝 6 g,制附片 10 g,砂仁 6 g。由广东一方制药有限公司提供中药配方颗粒,根据前期研究已证明的最佳有效剂量^[11],按成人 2 倍等效剂量即 1 g/(kg·d),配制成浓度为 1.2 g/mL 的溶液。缬沙坦胶囊成人剂量 80 mg/d,按人与动物体表面积折算^[12],以缬沙坦胶囊配制成 1.62 mg/mL 的溶液,灌胃量=给药剂量/各组相应溶液浓度,每次灌胃量 1~2 mL。正常组及模型组给予等量灭菌注射用水灌胃。每天 1 次,持续 8 周后结束实验进行取材。

2.3 指标及检测方法

2.3.1 心脏超声检测心功能 大鼠用动物用异氟烷经呼吸麻醉机麻醉后固定,前胸涂搽脱毛膏备皮后涂耦合剂,经飞依诺 VINNO6lab 彩色多谱勒超声诊断仪取大鼠左心室长轴切面后进行 M 超声检测,连续记录 10 个心动周期,测量左心室舒张末期内径(left ventricular end diastolic diameter, LVEDD)、左心室收缩末期内径(left ventricular end systolic diameter, LVESD)、左室射血分数(left ventricular ejection fractions, LVEF)、LVFS,所有数据均测量 3 次并取其平均值记录。

2.3.2 Masson 染色 取大鼠左心室心肌组织,放入 4%多聚甲醛溶液中固定标本,经石蜡包埋、切片(厚度约 5 μm)后,行 Masson 染色,过程参照 Masson 染色试剂盒说明书。染色后每组样本分别在 $\times 100$ 和 $\times 400$ 镜下随机选取 4 个视野拍照。光学显微镜下观察肌纤维呈红色,胶原纤维呈蓝染或绿色。

2.3.3 RT-qPCR 检测心肌组织 Col I mRNA 表达 取大鼠心肌组织约 0.02 g,以 Trizol 提取心肌组织总 RNA,以组织总 mRNA 为模板,逆转录 cDNA(反应体系为 20 μL),42 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 15 min,85 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 5 min,冰上冷却,5 倍稀释后于-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。每个标本取 2 μL 进行 PCR 反应,反应体系为 30 μL ,检测基因上下游引物各 1 μL ,去离子水 11 μL ,PCR Master Mix 15 μL 。扩增条件为 95 $^{\circ}\text{C}$ 10 min,95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,共 40 个循环,经 GAPDH 内参校正。收集每循环第 3 个步骤荧光信号量,以 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 反映各样品相对于对照组样品目的基因表达水平的比值, $\Delta\text{Ct}=\text{目的基因 Ct}-\text{内参基因 Ct}$, $-\Delta\Delta\text{Ct}=(\text{对照组})\Delta\text{Ct}-\text{各样品 } \Delta\text{Ct}$ 。每个样本重复 3 次后进行统计分析。引物设计首先在 NCBI 上搜索目的基因的序列,然后运用 Primer5 软件设计引物,最后由北京擎科合成引物。引物序列见表 1。

表 1 基因及其引物序列表

| 基因 | 引物序列(5'-3') | 引物长度/bp |
|-------|-----------------------------|---------|
| Col I | 正向引物 CTGGCTCTCCTGGTACCCCT | 160 |
| | 反向引物 GGACCACGTTCCACCACTTGCT | |
| GAPDH | 正向引物 ACAGCAACAGGCTGCTGGAC | 252 |
| | 反向引物 TTTGAGGTTGCAGCGAACTT | |

2.3.4 Western blot 法检测心肌 Col I、p-JAK2、p-STAT3 蛋白表达水平 剪取冻存心肌组织 0.025 g,加入 300 μL RIPA 裂解液冰上裂解 10 min,4 $^{\circ}\text{C}$,12 000 r/min 半径 7 cm 离心 15 min 后,将上清液转移到 1.5 mL 离心管中;按照 BCA 蛋白定量试剂盒(Abiowell)使用说明操作,测定蛋白浓度。每个样本取 200 μL 蛋白上清液,经电泳、转膜、封闭、一抗孵育,用 1 \times PBST 将一抗按照一定比例稀释,Col I (1:1 000),p-JAK2 (1:1 000),p-STAT3 (1:5 000),GAPDH (1:5 000),将膜与一抗一起孵育,室温放置 90 min。孵育结束,1 \times PBST 洗 3 次,每次 15 min。二抗孵育,用 1 \times PBST 稀释 HRP 标记的二抗,将按 1:5 000 稀释后的二抗与膜共同室温孵育 90 min。孵育结束,1 \times PBST 洗 3 次,每次 15 min。使用 ECL 化学发光液与膜孵育 1 min,用滤纸吸尽液体,用塑封膜将膜包裹杂交膜,在凝胶成像系统成像。将曝光后的底片用 Quantity One 专业灰度分析软件进行分析。

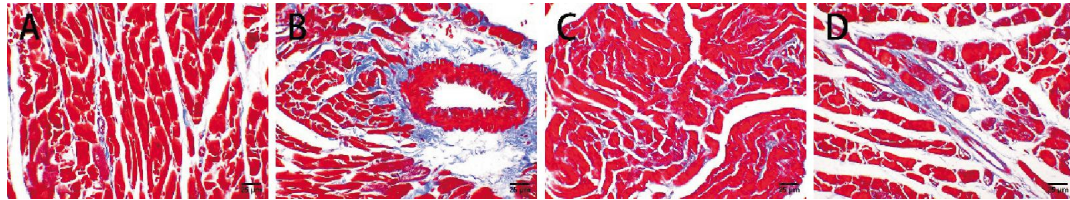
2.4 统计学分析

采用 GraphPad Prism 8.0.2 统计学软件进行统计分析,计量资料均以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,先进行正态性和方差齐性检验,各组间比较采用 one-way ANOVA 分析;方差不齐时用方差分析 Games-Howell 检验;

表2 各组大鼠心功能指标比较($\bar{x}\pm s, n=5$)

| 组别 | LVEDD/mm | LVESD/mm | LVEF/% | LVFS/% |
|------|--------------|----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 正常组 | 5.064±0.705 | 2.094±0.262 | 92.042±0.886 | 58.560±19.149 |
| 模型组 | 6.566±0.745* | 5.102±0.612** | 50.766±2.749** | 22.340±1.490** |
| 治疗组 | 6.034±0.623 | 3.632±0.477** [#] | 76.292±3.415** ^{#▲▲} | 39.908±2.917** ^{#▲▲} |
| 缬沙坦组 | 6.742±0.967* | 4.484±0.615** | 68.082±3.285** [#] | 33.430±2.426** [#] |

注:与正常组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.01$;与缬沙坦组比较,▲▲ $P<0.01$ 。

图1 各组大鼠心肌切片光镜图(Masson染色, $\times 400$, bar=100 μm)

注:A.正常组;B.模型组;C.治疗组;D.缬沙坦组。

不满足正态性时选择秩和检验;变量间的相关性用 Pearson 相关分析及线性回归分析。均以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠心功能指标比较

与正常组比较,模型组大鼠 LVEDD、LVESD 升高($P<0.05, P<0.01$),LVEF、LVFS 显著降低($P<0.01$)。与模型组比较,治疗组 LVEDD 降低($P<0.01$),而 LVEF、LVFS 升高($P<0.01$);缬沙坦组 LVEDD 差异无统计学意义($P>0.05$),而 LVEF、LVFS 升高($P<0.01$)。与缬沙坦组比较,治疗组 LVEDD、LVESD 差异无统计学意义($P>0.05$),而 LVEF、LVFS 升高($P<0.01$)。详见表 2。

3.2 各组大鼠心肌 Masson 染色结果

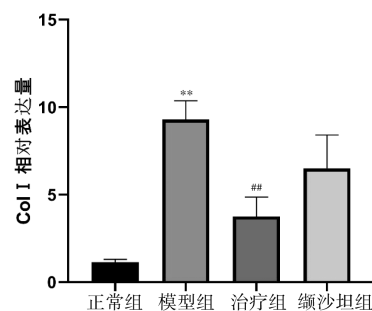
正常组大鼠心肌组织呈红色,细胞核呈蓝灰色,心肌纤维排列整齐、规则,细胞间见少量呈蓝色的胶原纤维沉积;模型组大鼠心肌纤维排列紊乱,视野中可见大量网状排列的胶原纤维;缬沙坦组相较于模型组心肌纤维排列紊乱有所改善,心肌纤维沉积减少;治疗组相较于模型组心肌纤维排列紊乱有所改善,胶原纤维沉积明显减少,相较于缬沙坦组胶原纤维沉积减少明显。详见图 1。

3.3 各组 Col I mRNA 表达比较

与正常组比较,模型组大鼠心肌 Col I mRNA 表达升高($P<0.01$);与模型组比较,XKG 治疗组大鼠心肌 Col I mRNA 表达下降($P<0.01$);治疗组与缬沙坦组之间差异无统计学意义($P>0.05$)。详见图 2。

3.4 各组 Col I、p-JAK2、p-STAT3 蛋白含量差异比较

与正常组比较,模型组大鼠心肌 Col I、p-STAT3、

图2 各组大鼠 Col I mRNA 相对表达量($\bar{x}\pm s, n=3$)

注:与正常组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.01$ 。

p-JAK2 蛋白含量均升高($P<0.01$);缬沙坦组 p-STAT3、p-JAK2 蛋白含量均升高($P<0.05, P<0.01$)。与模型组比较,治疗组大鼠心肌 Col I、p-STAT3、p-JAK2 蛋白含量均降低($P<0.05, P<0.01$)。与缬沙坦组比较,治疗组大鼠心肌 p-STAT3 蛋白含量降低($P<0.05$),p-JAK2、Col I 蛋白含量差异无统计学意义($P>0.05$)。详见图 3。

3.5 左室收缩末期内径与 Col I、p-STAT3、p-JAK2 蛋白含量线性回归分析及 Pearson 相关分析

p-STAT3 蛋白含量、p-JAK2 蛋白含量、Col I 蛋白含量均与 LVIDs 具有明确线性关系($F=47.57.69, 9.666; P<0.01, P<0.05$),且 p-STAT3、p-JAK2、Col I 与 LVIDs 均呈正相关。详见图 4。LVIDs 能被 p-STAT3、p-JAK2、Col I 蛋白含量解释的因素分别占 82.4%、85.2%、49.1%,其中与 p-JAK2、p-STAT3 蛋白含量的相关系数较大($r=0.923, 0.908$)。详见表 3。

4 讨论

CHF 是多种心血管疾病发展的终末阶段。目前,西医采用“新四联”规范化心力衰竭药物治疗模式,即血管紧张素受体脑啡肽酶抑制剂或血管紧张

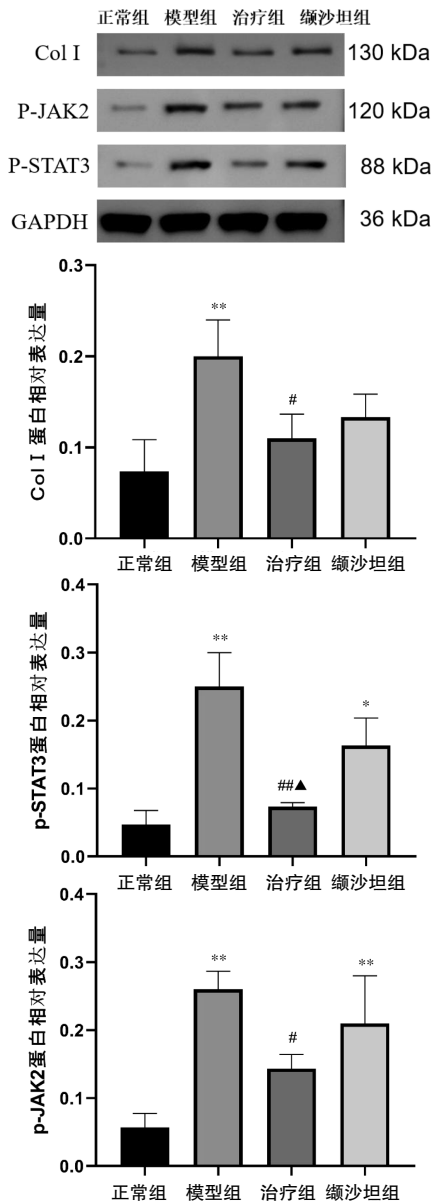


图3 各组大鼠心肌 Col I、p-STAT3 及 p-JAK2 蛋白含量($\bar{x}\pm s, n=3$)

注:与正常组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$,# $P<0.01$;与缬沙坦组比较,▲ $P<0.05$ 。

素转换酶抑制剂(angiotension converting enzyme inhibitors, ACEI)/血管紧张素 II 受体拮抗剂、钠-葡萄糖共转运蛋白 2 抑制剂、 β 受体阻滞剂和盐皮质激素受体拮抗剂^[13]。其中,ACEI 类代表药物缬沙坦经临床试验证明具有改善心脏结构和功能、治疗肥厚型心肌病的作用^[14]。有实验研究证实,缬沙坦具有明确的抗心肌纤维化的作用^[15]。

CHF 依据其心悸、气喘、肢体水肿等症状体征,在中医学归属为“心胀”“心悸”“水肿”等范畴。毛以林教授在研究古今文献和临床实践的基础上,提出 CHF 的主要病机观念为宗气下陷、脾肾阳虚、水湿内停^[6],由此拟方心康冲剂,该方以真武汤、升陷汤以及参苓白术散合并化裁而出,具有升补心肺宗气、温补脾肾阳气、利水渗湿化饮的功效,可用于

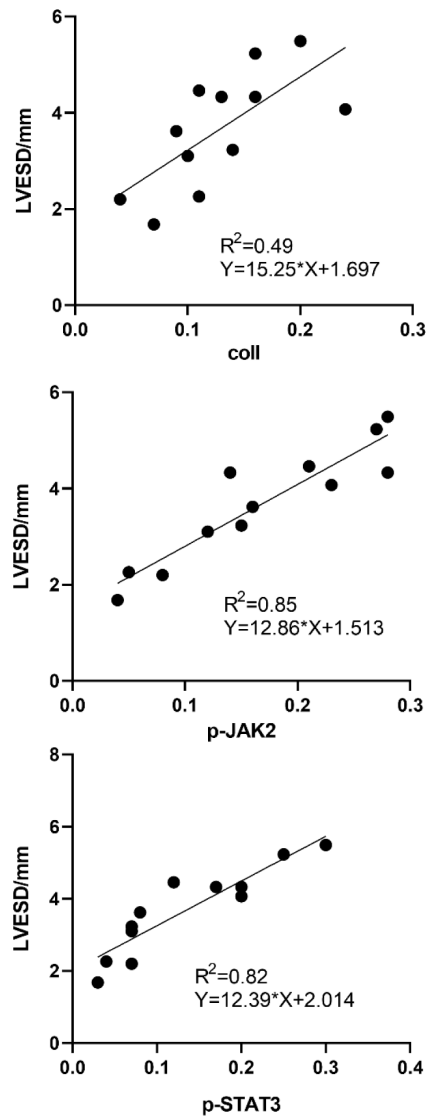


图4 Col I、p-STAT3、p-JAK2 蛋白含量与 LVESDs 的线性关系

表3 各组 Col I、p-STAT3、p-JAK2 蛋白含量与 LVESD 的 Pearson 相关

| 指标 | Pearson 系数 | |
|---------|------------|-------|
| | r | R^2 |
| Col I | 0.701 | 0.491 |
| p-STAT3 | 0.908 | 0.824 |
| p-JAK2 | 0.923 | 0.852 |

CHF 治疗,并获得显著的临床疗效,前期研究该方能抗心肌纤维化、延缓心力衰竭、抗心室重构^[16]。

CHF 的主要病理变化是心室重构,心力衰竭时由于心脏负荷增加,心肌代偿性肥厚,且心肌肥厚时心肌细胞数并不增多,而是心肌纤维增多,表现为心肌纤维化。细胞外基质的过度沉积是心肌纤维化的重要原因,细胞外基质主要是由 I 型、III 型胶原构成,其中 I 型胶原占心肌胶原的 80%~85%,其含量与心脏功能密切相关。心肌纤维化时胶原沉积,各型胶原比例失调,其中 I 型、III 型胶原比例升高、排列

紊乱^[14],心脏结构重塑、心肌肥大、心室壁顺应性下降,最终导致功能障碍。因此,I型胶原的含量与排列可以用来评估心肌纤维化的程度。

近年来,关于 JAK2/STAT3 信号通路参与调控多种重要脏器纤维化的报道越来越多^[17-19]。其在心肌纤维化中的作用也备受重视,研究表明,JAK2/STAT3 信号通路的激活是导致左心室心肌纤维化的重要机制之一^[20]。JAK2/STAT3 信号通路激活的第一步是 JAK2 的激活,各种配体如白细胞介素-6 与 JAK2 结合使其磷酸化,激活后的 JAK2 可使其下游的 STAT3 磷酸化,激活后的 STAT3 上调成纤维细胞,促进肌成纤维细胞的增殖^[21],上调 I 型胶原蛋白的合成^[5]。

在本实验中,心脏彩超结果显示阿霉素腹腔注射造模后大鼠 LVEED、LVESD 明显升高,而 LVEF、LVFS 显著下降,Masson 染色显示模型组大鼠心肌组织有明显的纤维化改变,且心肌组织中 Col I mRNA 的表达及蛋白含量均明显升高,纤维化的心肌组织中 p-STAT3 及 p-JAK2 蛋白含量均升高;而心康冲剂能够明显改善心肌纤维化,降低组织中 Col I mRNA 的表达和 Col I 含量,作用途径可能是通过抑制 JAK2 磷酸化进而抑制 STAT3 的磷酸化,从而减轻心肌纤维化。通过相关分析及线性回归分析发现,p-STAT3、p-JAK2、Col I 含量与 LVIDs 呈正相关,且 p-STAT3、p-JAK2 对 LVIDs 的影响更大。以上结果表明,心康冲剂基于 JAK2/STAT3 信号通路调控,减少心肌 Col I 的合成,从而抗心肌纤维化。

参考文献

- [1] 卢健棋,李苏依,卢俊桑,等. 中医药治疗慢性心力衰竭的研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(12): 145-148.
- [2] WEBER K T, PICK R, JALIL J E, et al. Patterns of myocardial fibrosis[J]. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 1989, 21: 121-131.
- [3] 郑海清,应苗法,顾胜龙,等. 心肌纤维化的信号转导机制及新型抑制剂的研究进展[J]. 中国细胞生物学学报, 2019, 41(2): 268-274.
- [4] BHARADWAJ U, KASEMBELI M M, ROBINSON P, et al. Targeting Janus kinases and signal transducer and activator of transcription 3 to treat inflammation, fibrosis, and cancer: Rationale, progress, and caution[J]. *Pharmacological Reviews*, 2020, 72(2): 486-526.
- [5] MAKINO Y, HIKITA H, KODAMA T, et al. CTGF mediates tumor-stroma interactions between hepatoma cells and hepatic stellate cells to accelerate HCC progression[J]. *Cancer Research*, 2018, 78(17): 4902-4914.
- [6] 毛以林. 步入中医之门 6: 疑难病证辨治思路详解[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2018: 90-102.
- [7] SHATI A A, EL-KOTT A F. Acylated ghrelin prevents doxorubicin-induced cardiac intrinsic cell death and fibrosis in rats by restoring IL-6/JAK2/STAT3 signaling pathway and inhibition of STAT1[J]. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2019, 392(9): 1151-1168.
- [8] 刘蓉芳,杨婷,吴玲娇,等. 心康冲剂调控 miRNA-21/PTEN/Akt/MMP-2/FasI 表达抗心衰大鼠心肌纤维化研究[J]. 时珍国医国药, 2018, 29(12): 2862-2865.
- [9] 徐建虎,张琦,杨子庆,等. 阿霉素诱导大鼠慢性心衰模型的制备[J]. 宁夏医科大学学报, 2016, 38(3): 348-351.
- [10] XU K, GEORGE I, KLOTZ S, et al. Erythropoietin derivate improves left ventricular systolic performance and attenuates left ventricular remodeling in rats with myocardial infarct-induced heart failure[J]. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 2010, 56(5): 506-512.
- [11] 刘蓉芳,张辉,谭雄,等. 心康冲剂调控慢性心衰大鼠 miRNA-21/PTEN 抗心肌纤维化研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2018, 38(3): 270-274.
- [12] 贺石林,王键,王净净. 中医科研设计与统计学[M].长沙:湖南科学技术出版社, 2006: 48.
- [13] 葛均波,霍勇,杨杰孚,等. 慢性心力衰竭“新四联”药物治疗临床决策路径专家共识[J]. 中国循环杂志, 2022, 37(8): 769-781.
- [14] NEFF L S, BRADSHAW A D. Cross your heart? Collagen cross-links in cardiac health and disease[J]. *Cellular Signalling*, 2021, 79: 109889.
- [15] SUI X Z, WEI H C, WANG D C. Novel mechanism of cardiac protection by valsartan: Synergetic roles of TGF- β 1 and HIF-1 α in Ang II-mediated fibrosis after myocardial infarction[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2015, 19(8): 1773-1782.
- [16] 刘蓉芳,孙玲,张杼惠,等. 心康冲剂对慢性心力衰竭大鼠心室重构的影响[J]. 中医杂志, 2017, 58(22): 1947-1952.
- [17] QIN Y, ZHAO P, CHEN Y, et al. Lipopolysaccharide induces epithelial-mesenchymal transition of alveolar epithelial cells cocultured with macrophages possibly via the JAK2/STAT3 signaling pathway[J]. *Human & Experimental Toxicology*, 2020, 39(2): 224-234.
- [18] LI Y F, GUO F, HUANG R S, et al. Natural flavonoid pectolinarigenin alleviated kidney fibrosis via inhibiting the activation of TGF β /SMAD3 and JAK2/STAT3 signaling[J]. *International Immunopharmacology*, 2021, 91: 107279.
- [19] ZHAO J, QI Y F, YU Y R. STAT3: A key regulator in liver fibrosis[J]. *Annals of Hepatology*, 2021, 21: 100224.
- [20] KIM D, LEE I H, KIM S, et al. A specific STAT3-binding peptide exerts antiproliferative effects and antitumor activity by inhibiting STAT3 phosphorylation and signaling[J]. *Cancer Research*, 2014, 74(8): 2144-2151.
- [21] SUN X X, ZHANG J, WANG L H, et al. Growth inhibition of human hepatocellular carcinoma cells by blocking STAT3 activation with decoy-ODN[J]. *Cancer Letters*, 2008, 262(2): 201-213.