

·实验研究·

本文引用: 柏雪焯紫, 高文文, 王得春, 朱 斌, 刘心竹, 龚嘎蓝孜. 芒柄花素调控 HIF-2 α /EPO 信号通路改善慢性高原病大鼠的红细胞过度增多[J]. 湖南中医药大学学报, 2026, 46(6): 1089-1095.

芒柄花素调控 HIF-2 α /EPO 信号通路改善慢性高原病大鼠的红细胞过度增多

柏雪焯紫¹, 高文文², 王得春², 朱 斌², 刘心竹¹, 龚嘎蓝孜^{1*}

1. 西藏大学医学院, 西藏 拉萨 850000; 2. 西藏军区总医院, 西藏 拉萨 850000

[摘要] **目的** 基于缺氧诱导因子-2 α (HIF-2 α)/红细胞生成素(EPO)信号通路,探究芒柄花素对慢性高原病大鼠红细胞过度增多的影响。**方法** 将 60 只雄性 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、芒柄花素低剂量组、芒柄花素中剂量组、芒柄花素高剂量组、芒柄花素高剂量+HIF-2 α 稳定剂 FG-4592 组(简称 FG-4592 组),每组 10 只。测定各组大鼠的肺动脉压,测定外周血的红细胞计数、血红蛋白、红细胞压积指标,检测血清中 EPO、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的水平,Western blot 检测肾脏组织中 HIF-2 α (核)、EPO 及骨髓组织中 GATA 结合蛋白-1(GATA-1)、磷酸化促红细胞生成素受体(p-EPOR)蛋白的表达。**结果** 与对照组比较,模型组大鼠的肺动脉压、红细胞计数、血红蛋白、红细胞压积、EPO、HIF-2 α 、GATA-1、p-EPOR、MDA、IL-6、TNF- α 水平升高($P<0.05$),SOD 水平降低($P<0.05$);与模型组比较,芒柄花素低、中、高剂量组大鼠的肺动脉压、红细胞计数、血红蛋白、红细胞压积、EPO、HIF-2 α 、GATA-1、p-EPOR、MDA、IL-6、TNF- α 水平降低($P<0.05$),SOD 水平升高($P<0.05$);与芒柄花素高剂量组比较,FG-4592 组的肺动脉压、红细胞计数、血红蛋白、红细胞压积、EPO、HIF-2 α 、GATA-1、p-EPOR、MDA、IL-6、TNF- α 水平升高($P<0.05$),SOD 水平降低($P<0.05$)。**结论** 芒柄花素能够抑制慢性高原病大鼠红细胞过度生成,同时减轻红细胞异常增殖所介导的氧化应激及炎症反应,其机制可能与抑制 HIF-2 α /EPO 信号通路有关。

[关键词] 芒柄花素;慢性高原病;HIF-2 α /EPO 信号通路;红细胞增多;氧化应激;炎症

[中图分类号] R285.5

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2026.06.001

Formononetin regulates the HIF-2 α /EPO pathway to ameliorate excessive erythrocytosis in rats with chronic mountain sickness

BAI Xueyezi¹, GAO Wenwen², WANG Dechun², ZHU Bin², LIU Xinzhu¹, GONGGA Lanzi^{1*}

1. Medical College, Xizang University, Lhasa, Xizang 850000, China;

2. General Hospital of Xizang Military Region, Lhasa, Xizang 850000, China

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of formononetin on excessive erythrocytosis in rats with chronic mountain sickness (CMS) based on the hypoxia[⊖]inducible factor-2 α (HIF-2 α)/erythropoietin (EPO) signaling pathway. **Methods** Sixty male SD rats were randomly divided into control group, model group, low-, medium-, and high-dose formononetin groups, as well as formononetin high-dose+HIF-2 α stabilizer FG-4592 group (FG-4592 group), with 10 rats in each group. Pulmonary arterial pressure was measured in each group of rats. Red blood cell count (RBC), hemoglobin (Hb), and hematocrit (HCT) of the peripheral blood

[收稿日期] 2026-04-17

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(U22A20340);西藏自治区科技计划项目(XZ202502JD0027)。

[通信作者] * 龚嘎蓝孜,女,博士,教授,博士研究生导师,E-mail: qeblanzi@utibet.edu.cn。

were determined. Serum levels of EPO, malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), interleukin-6 (IL-6), and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were measured. Western blot was performed to determine the protein expression of nuclear HIF-2 α and EPO in kidney tissues, as well as GATA-binding protein-1 (GATA-1) and phosphorylated erythropoietin receptor (p-EPOR) in bone marrow tissues. **Results** Compared with the control group, the model group showed increases in pulmonary arterial pressure, RBC, Hb, HCT, EPO, HIF-2 α , GATA-1, p-EPOR, MDA, IL-6, and TNF- α ($P<0.05$), and a decreased SOD level ($P<0.05$). Compared with the model group, the formononetin low-, medium-, and high-dose groups exhibited decreases in pulmonary arterial pressure, RBC, Hb, HCT, EPO, HIF-2 α , GATA-1, p-EPOR, MDA, IL-6, and TNF- α ($P<0.05$), and an increase in SOD level ($P<0.05$). Compared with the formononetin high-dose group, the FG-4592 group showed elevations in pulmonary arterial pressure, RBC, Hb, HCT, EPO, HIF-2 α , GATA-1, p-EPOR, MDA, IL-6, and TNF- α ($P<0.05$), and a decrease in SOD level ($P<0.05$). **Conclusion** Formononetin can inhibit excessive erythrocyte production in rats with CMS and simultaneously alleviate the oxidative stress and inflammatory responses mediated by abnormal erythrocyte proliferation. Its mechanism may be related to the inhibition of the HIF-2 α /EPO signaling pathway.

[**Keywords**] formononetin; chronic mountain sickness; HIF-2 α /EPO signaling pathway; erythrocytosis; oxidative stress; inflammation

慢性高原病是长期生活于高海拔(>3 500 m)地区人群的常见疾病,发病率为 5%~10%。以红细胞过度增多、血液黏稠、肺动脉高压及右心衰竭为主要特征,严重者可导致全身器官缺氧缺血性损伤甚至危及生命^[1]。目前,临床用于治疗慢性高原病的药物效果不理想且毒副作用较大。因此,研发高效、低毒的新型药物具有重要意义。中医治疗疾病具有疗效好、毒副作用小、多靶点等优势。中医学认为慢性高原病属于血瘀证,其关键病因在于气虚血瘀、脉络瘀阻,治疗时采用益气活血、化瘀通络之法。临床研究显示,利用中医方剂治疗后能够显著改善慢性高原病患者的红细胞增多情况及血液流变学指标^[2]。黄芪是经典的补气药,具有补气升阳、行滞通痹等多种功效,适用于“气虚血瘀、脉络瘀阻”之慢性高原病。动物实验发现,黄芪水提物干预后能够显著提升高原缺氧大鼠的运动能力^[3],提示黄芪可能能够有效对抗高原缺氧所致的机体病理损伤。芒柄花素是来源于黄芪的黄酮类化合物,是黄芪发挥补气活血作用的重要活性物质之一。研究表明,芒柄花素能够通过抑制铁死亡来减轻缺氧缺血造成的新生小鼠脑损伤^[4],减轻心肌梗死大鼠的心肌损伤^[5],上述研究证实了芒柄花素具有良好的抗缺氧缺血作用。然而,芒柄花素干预慢性高原病的效果及机制尚未完全阐明。

缺氧诱导因子-2 α (hypoxia-inducible factor-2 α ,

HIF-2 α)/红细胞生成素(erythropoietin, EPO)信号通路是调控红细胞生成的重要信号通路。缺氧条件下,被激活的 HIF-2 α 能够促进其下游信号 EPO 的转录翻译,EPO 释放入血后进入骨髓,促进红系祖细胞增殖并分化为成熟红细胞,从而代偿性抵抗缺氧情况。研究发现,激活 HIF-2 α /EPO 信号通路能够加重慢性高原病大鼠的红细胞增多症^[6]。然而,芒柄花素是否通过调控 HIF-2 α /EPO 信号通路来影响慢性高原病的红细胞过度增多情况尚不清楚。因此,本研究通过构建慢性高原病大鼠模型,探究芒柄花素对慢性高原病的红细胞过度增多及 HIF-2 α /EPO 信号通路的影响。

1 材料与方法

1.1 试剂及仪器

芒柄花素(纯度:HPLC $\geq$ 98%,货号:V96234)购自上海源叶生物技术有限公司;HIF-2 α 稳定剂 FG-4592(货号:HY-13426)购自美国 MCE 公司;EPO 检测试剂盒(货号:ml105055)购自上海酶联生物技术有限公司;丙二醛(malondialdehyde, MDA)(货号:S0131S)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)(货号:S0101M)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)(货号:PI328)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)(货号:PT516)检测试剂盒均购自上海碧云天生物技术有限公司;细胞核提取

试剂盒(货号:NUC101)购自美国 Thermo Fisher 公司;HIF-2 α 一抗(货号:YT5325)、EPO 一抗(货号:YT7988)、GATA 结合蛋白-1(GATA-binding protein-1, GATA-1)一抗(货号:YM9480)、磷酸化促红细胞生成素受体(phosphorylated erythropoietin receptor, p-EPOR)一抗(货号:YP0552)购自美国 Immunoway 公司。

BL-420S 型多道生理记录仪购自成都泰盟软件有限公司;HEMAVET 950 型动物血液分析仪购自美国 Drew Scientific 公司。

1.2 实验动物

60 只雄性无特定病原体级 SD 大鼠(8 周龄,体重 190~230 g)购自青海喜马拉雅动物实验中心有限公司[许可证号:SCXK(青)2024-0001]。饲养条件:温度 18~26 $^{\circ}\text{C}$ 、湿度 40%~60%、12 h 明/暗交替循环,自由饮食。大鼠适应性饲养 1 周后进行正式实验。本动物实验经西藏军区总医院实验动物伦理委员会批准(批件号:2025XZJQZYKY-11)。

1.3 实验分组及药物干预方法

随机取 10 只大鼠为对照组,剩余的 50 只大鼠参照既往文献进行慢性高原病大鼠模型的构建^[7]:将造模大鼠放置于人工试验舱中,设置实验舱的大气压 54.1 kPa、氧分压 10.84 kPa、温度 18~26 $^{\circ}\text{C}$ 、湿度 40%~60%,以模拟海拔 5 000 m 环境,造模大鼠每日在试验舱中放置 24 h,连续放置 30 d。对照组在平原环境下饲养 30 d。造模 30 d 后,检测造模大鼠的外周血血红蛋白数值,若血红蛋白 ≥ 200 g/L 则表明慢性高原病大鼠造模成功^[8]。经评估,50 只慢性高原病大鼠全部造模成功。造模成功后,除对照组外的所有大鼠继续处于模拟海拔 5 000 m 的实验舱中,直至实验结束,对照组大鼠则继续放置于平原环境中。将 50 只慢性高原病大鼠随机分为模型组、芒柄花素低剂量组、芒柄花素中剂量组、芒柄花素高剂量组、芒柄花素高剂量+FG-4592 组(简称 FG-4592 组),每组 10 只。各芒柄花素组分别灌胃 10、20、40 mg/kg 的芒柄花素(溶剂为 0.5%羧甲基纤维素钠溶液)^[9];FG-4592 组大鼠每周灌胃给药 10 mg/kg 的 FG-4592(溶剂为 0.5%羧甲基纤维素钠溶液)^[10],

其余操作同芒柄花素高剂量组;对照组、模型组大鼠每日灌胃等量 0.5%羧甲基纤维素钠溶液。以上操作均每日 1 次,连续干预 2 周。

1.4 肺动脉压的检测

大鼠末次干预后次日,腹腔注射戊巴比妥钠(50 mg/kg)麻醉大鼠,将大鼠固定后切开右侧颈部皮肤,暴露颈外静脉,颈外静脉剪一小口,PE-50 导管与 BL-420S 型多道生理记录仪连接,充满肝素生理盐水的 PE-50 导管经颈外静脉、右心房、右心室插入至肺动脉,待出现肺动脉压波形,通过生理记录仪记录稳定的肺动脉压数值。

1.5 外周血常规的检测

肺动脉压检测完毕后,经腹主动脉采血,取 0.5~1 mL 血液置于乙二胺四乙酸抗凝管中用于血常规检测,采用 HEMAVET 950 型动物血液分析仪检测血液的红细胞计数、血红蛋白、红细胞压积。剩余的血液分离血清后分装冻存于-80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱,用于血清学指标的检测。

1.6 血清学指标的检测

取各组大鼠血清,采用相应检测试剂盒分别检测血清中的 EPO、MDA、SOD、IL-6、TNF- α 水平,按照试剂盒说明书进行操作。

1.7 Western blot 实验

取各组大鼠的肾脏组织及骨髓组织,RIPA 裂解液裂解,离心,取上清液,加入 4 $\times$ Loading buffer 溶液,于 100 $^{\circ}\text{C}$ 下高温变性后得总蛋白样品液。取一部分肾脏组织,用细胞核提取试剂盒提取肾脏组织的核蛋白用于 HIF-2 α (核)的检测。蛋白条带以稀释的 HIF-2 α 一抗(1:800 稀释)、EPO 一抗(1:1 200 稀释)、GATA-1 一抗(1:1 200 稀释)、p-EPOR 一抗(1:1 000 稀释)于 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,加入二抗(1:5 000 稀释),室温下孵育 1 h,显影仪曝光。总蛋白内参为 GAPDH,细胞核蛋白内参为 Histone H3。

1.8 统计学分析

运用 SPSS 27.0 软件对数据进行统计学分析,呈正态分布的计量资料,采用“ $\bar{x}\pm s$ ”表示。对于多组数据的比较,选用单因素方差分析方法;若需进行组间两两对比,则采用 LSD- t 检验。当 $P<0.05$ 时,表明差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同剂量芒柄花素对各组大鼠肺动脉压的影响

相比于对照组,模型组的肺动脉压升高($P<0.05$);各剂量芒柄花素组的肺动脉压低于模型组($P<0.05$),且芒柄花素的作用效果呈剂量依赖趋势($P<0.05$);与芒柄花素高剂量组比较,FG-4592 组大鼠的肺动脉压升高($P<0.05$)。详见表 1。

表 1 各组大鼠肺动脉压的比较($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 1 Comparison of pulmonary artery pressure among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	肺动脉压/(mmHg)
对照组	19.74±1.28
模型组	37.58±2.49 ^a
芒柄花素低剂量组	32.69±2.13 ^{ab}
芒柄花素中剂量组	26.30±2.56 ^{abc}
芒柄花素高剂量组	21.43±1.89 ^{bcd}
FG-4592 组	29.81±1.56 ^{de}

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与芒柄花素低剂量组比较,^c $P<0.05$;与芒柄花素中剂量组比较,^d $P<0.05$;与芒柄花素高剂量组比较,^e $P<0.05$ 。

2.2 不同剂量芒柄花素对各组大鼠外周血常规指标的影响

相比于对照组,模型组的外周红细胞计数、血红蛋白、红细胞压积升高($P<0.05$);相比于模型组,各剂量芒柄花素组的红细胞计数、血红蛋白、红细胞压积降低($P<0.05$),且芒柄花素的作用效果呈剂量依赖趋势($P<0.05$);与芒柄花素高剂量组比较,FG-4592 组大鼠外周红细胞计数、血红蛋白、红细胞压积升高($P<0.05$)。详见表 2。

2.3 不同剂量芒柄花素对各组大鼠血清 EPO 水平的影响

相比于对照组,模型组的血清 EPO 水平升高($P<0.05$);各剂量芒柄花素组的血清 EPO 水平低于模型组($P<0.05$),且芒柄花素的作用效果呈剂量依赖趋势($P<0.05$);与芒柄花素高剂量组比较,FG-4592 组大鼠血清 EPO 水平升高($P<0.05$)。详见表 3。

2.4 不同剂量芒柄花素对各组大鼠肾组织中 HIF-2 α /EPO 信号通路相关蛋白表达的影响

相比于对照组,模型组的 HIF-2 α (核)、EPO 蛋白表达水平上升($P<0.05$);各剂量芒柄花素组的

表 2 各组大鼠外周红细胞计数、血红蛋白、红细胞压积的比较($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 2 Comparison of peripheral red blood cell count, hemoglobin, and hematocrit among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	红细胞计数/ (10^{12} 个/L)	血红蛋白/ (g/L)	红细胞 压积/%
对照组	5.71±0.62	137.45±15.64	36.51±2.56
模型组	9.64±1.07 ^a	283.59±22.71 ^a	72.45±4.89 ^a
芒柄花素低剂量组	8.13±0.73 ^{ab}	236.27±19.64 ^{ab}	60.39±3.75 ^{ab}
芒柄花素中剂量组	6.92±0.54 ^{abc}	193.52±15.83 ^{abc}	52.26±2.50 ^{abc}
芒柄花素高剂量组	5.94±0.65 ^{bcd}	157.06±12.74 ^{bcd}	40.73±2.18 ^{bcd}
FG-4592 组	7.58±0.81 ^{de}	213.74±19.25 ^{de}	56.19±3.06 ^{de}

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与芒柄花素低剂量组比较,^c $P<0.05$;与芒柄花素中剂量组比较,^d $P<0.05$;与芒柄花素高剂量组比较,^e $P<0.05$ 。

表 3 各组大鼠血清中 EPO 水平的比较($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 3 Comparison of serum EPO levels among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	血清 EPO/(pg/mL)
对照组	62.73±3.47
模型组	109.42±3.65 ^a
芒柄花素低剂量组	93.17±3.89 ^{ab}
芒柄花素中剂量组	85.59±4.12 ^{abc}
芒柄花素高剂量组	72.09±3.18 ^{bcd}
FG-4592 组	88.74±2.59 ^{de}

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与芒柄花素低剂量组比较,^c $P<0.05$;与芒柄花素中剂量组比较,^d $P<0.05$;与芒柄花素高剂量组比较,^e $P<0.05$ 。

HIF-2 α (核)、EPO 蛋白表达水平低于模型组($P<0.05$),且芒柄花素的作用效果呈剂量依赖趋势($P<0.05$);与芒柄花素高剂量组比较,FG-4592 组大鼠肾脏组织中 HIF-2 α (核)、EPO 蛋白的表达水平升高($P<0.05$)。详见图 1、表 4。

2.5 不同剂量芒柄花素对各组大鼠骨髓组织中 GATA-1、p-EPOR 蛋白表达的影响

相比于对照组,模型组的 GATA-1、p-EPOR 蛋白表达水平上升($P<0.05$);与模型组比较,各剂量芒柄花素组的 GATA-1、p-EPOR 蛋白表达水平降低($P<0.05$),且芒柄花素的作用效果呈剂量依赖趋势($P<0.05$);FG-4592 组的 GATA-1、p-EPOR 蛋白表达水平高于芒柄花素高剂量组($P<0.05$)。详见图 2、表 5。

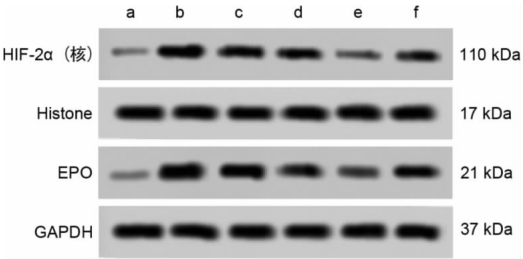


图 1 Western blot 检测各组大鼠肾脏组织中 HIF-2α (核)、EPO 蛋白的表达

Fig.1 Western blot measurement of HIF-2α (nuclear) and EPO protein expression in kidney tissues in each group of rats

注:a.对照组;b.模型组;c.芒柄花素低剂量组;d.芒柄花素中剂量组;e.芒柄花素高剂量组;f.FG-4592 组。

表 4 各组大鼠肾脏组织中 HIF-2α (核)、EPO 蛋白表达水平的比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 4 Comparison of HIF-2α (nuclear) and EPO protein expression in kidney tissues among different groups of rats ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	HIF-2α/Histone	EPO/GAPDH
对照组	0.16±0.01	0.18±0.02
模型组	0.96±0.11 ^a	1.45±0.12 ^a
芒柄花素低剂量组	0.52±0.04 ^{ab}	0.87±0.07 ^{ab}
芒柄花素中剂量组	0.44±0.03 ^{abc}	0.53±0.04 ^{abc}
芒柄花素高剂量组	0.19±0.02 ^{bcd}	0.29±0.02 ^{bcd}
FG-4592 组	0.40±0.03 ^{ac}	0.68±0.06 ^{ac}

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与芒柄花素低剂量组比较,^c $P<0.05$;与芒柄花素中剂量组比较,^d $P<0.05$;与芒柄花素高剂量组比较,^e $P<0.05$ 。

2.6 不同剂量芒柄花素对各组大鼠血清中氧化应激及炎症相关指标的影响

相比于对照组,模型组的血清 MDA、IL-6、TNF-α 水平增加 ($P<0.05$),SOD 水平降低 ($P<0.05$);与模

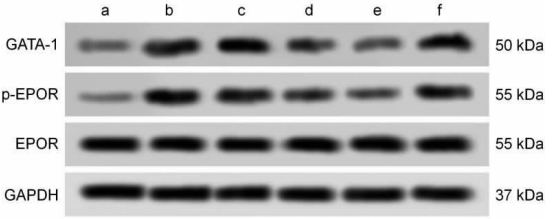


图 2 Western blot 检测各组大鼠骨髓组织中 GATA-1、p-EPOR 蛋白的表达

Fig.2 Western blot measurement of GATA-1 and p-EPOR protein expression in bone marrow tissues in each group of rats

注:a.对照组;b.模型组;c.芒柄花素低剂量组;d.芒柄花素中剂量组;e.芒柄花素高剂量组;f.FG-4592 组。

表 5 各组大鼠骨髓组织中 GATA-1、p-EPOR 蛋白表达的比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 5 Comparison of GATA-1 and p-EPOR protein expression in bone marrow tissues among different groups of rats ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	GATA-1/GAPDH	p-EPOR/EPOR
对照组	0.22±0.03	0.21±0.02
模型组	0.93±0.07 ^a	0.86±0.07 ^a
芒柄花素低剂量组	0.71±0.06 ^{ab}	0.73±0.06 ^{ab}
芒柄花素中剂量组	0.53±0.04 ^{abc}	0.56±0.05 ^{abc}
芒柄花素高剂量组	0.24±0.02 ^{bcd}	0.27±0.02 ^{bcd}
FG-4592 组	0.79±0.08 ^{ac}	0.69±0.05 ^{ac}

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与芒柄花素低剂量组比较,^c $P<0.05$;与芒柄花素中剂量组比较,^d $P<0.05$;与芒柄花素高剂量组比较,^e $P<0.05$ 。

型组比较,各剂量芒柄花素组的 MDA、IL-6、TNF-α 水平降低 ($P<0.05$),SOD 水平升高 ($P<0.05$),且芒柄花素的作用效果呈剂量依赖趋势 ($P<0.05$);与芒柄花素高剂量组比较,FG-4592 组大鼠血清中 MDA、IL-6、TNF-α 水平升高 ($P<0.05$),而 SOD 水平降低 ($P<0.05$)。详见表 6。

表 6 各组大鼠血清中 MDA、SOD、IL-6、TNF-α 水平的比较 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 6 Comparison of MDA, SOD, IL-6, and TNF-α levels in the serum among different groups of rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	MDA/(nmol/mL)	SOD/(U/mL)	IL-6/(pg/mL)	TNF-α/(pg/mL)
对照组	3.19±0.51	49.32±3.58	8.67±1.07	21.89±1.96
模型组	14.57±1.29 ^a	12.16±0.94 ^a	45.73±3.59 ^a	94.26±6.45 ^a
芒柄花素低剂量组	11.26±1.73 ^{ab}	24.19±1.92 ^{ab}	32.54±2.71 ^{ab}	73.14±7.39 ^{ab}
芒柄花素中剂量组	7.54±0.92 ^{abc}	32.78±2.05 ^{abc}	20.31±2.39 ^{abc}	50.96±3.28 ^{abc}
芒柄花素高剂量组	3.49±0.56 ^{bcd}	45.69±3.17 ^{bcd}	12.19±1.04 ^{bcd}	31.75±2.61 ^{bcd}
FG-4592 组	8.24±0.74 ^{ac}	32.53±2.56 ^{ac}	27.98±1.92 ^{ac}	62.83±4.58 ^{ac}

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与芒柄花素低剂量组比较,^c $P<0.05$;与芒柄花素中剂量组比较,^d $P<0.05$;与芒柄花素高剂量组比较,^e $P<0.05$ 。

3 讨论

长期居住于高海拔地区人群易患慢性高原病,其核心病理机制为红细胞过度增多致血液高黏滞综合征,诱发循环系统紊乱,增加脑梗死、心肌缺血等疾病风险^[1]。芒柄花素(源于中药黄芪)具有抗缺血缺氧作用^[4-5],且可提升模型小鼠外周血细胞数^[11],提示其可调控血细胞生成。外周红细胞计数、血红蛋白、红细胞压积升高是诊断慢性高原病的重要指标^[12]。本研究发现,芒柄花素干预能够降低肺动脉压及外周红细胞计数、血红蛋白、红细胞压积,表明其能有效抑制慢性高原病大鼠的红细胞过度增多。

肾脏是参与慢性高原病的重要器官。常氧下,HIF-2 α 被脯氨酸羟化酶(prolyl hydroxylase domain, PHD)羟化并经VHL泛素化降解;低氧时PHD活性降低,HIF-2 α 稳定并与HIF-1 β 形成异二聚体入核,促进下游EPO转录;EPO结合骨髓红系祖细胞表面的EPOR,激活Janus激酶2-EPOR信号,促进红系祖细胞增殖、分化为成熟红细胞^[13]。抑制HIF-2 α /EPO通路可减轻慢性高原病大鼠红细胞过度增多^[6]。GATA-1受EPO激活并促进EPOR表达,形成EPO-GATA-1正反馈环路^[14]。在慢性高原病的研究中发现,抑制HIF-2 α 可降低GATA-1表达从而抑制红细胞过度增多^[15]。本研究发现,芒柄花素能够抑制慢性高原病大鼠肾脏组织HIF-2 α (核)、EPO的表达,降低血清EPO水平,并抑制骨髓组织GATA-1、p-EPOR的表达,提示芒柄花素能够抑制HIF-2 α /EPO信号通路。FG-4592作为PHD抑制剂,可通过抑制PHD活性来阻止HIF- α 亚基泛素化降解,从而稳定并激活HIF-1 α 和HIF-2 α ,但在红细胞生成中,HIF-2 α 是主导亚基^[16]。本研究中FG-4592能够部分逆转芒柄花素对红细胞增多的抑制作用,提示芒柄花素可能通过抑制HIF-2 α /EPO信号通路来抑制慢性高原病大鼠红细胞增多。

过度增多的红细胞释放大量氧自由基,引起剧烈氧化应激及炎症反应,加剧组织器官损伤^[17]。研究证实,抑制氧化应激可减轻慢性高原病所致心脑血管缺氧损伤^[18],抑制IL-6、TNF- α 等促炎性细胞因子水平能减轻慢性高原病小鼠心脏损伤^[19]。MDA、SOD是

与氧化应激密切相关的指标。MDA是脂质过氧化终产物,其水平与氧化应激水平呈正相关;SOD是重要的抗氧化应激指标,能够清除自由基来减轻机体的氧化应激反应^[20]。本研究发现,芒柄花素能抑制慢性高原病大鼠血清IL-6、TNF- α 、MDA水平,并升高SOD水平,说明芒柄花素能抑制慢性高原病引起的氧化应激和炎症反应。HIF-2 α /EPO信号通路与上述过程密切相关。研究表明,HIF-2 α 通过驱动红细胞过度增多导致血液黏稠、微循环障碍,加重组织缺氧,进而激活NADPH氧化酶产生大量活性氧,引发氧化应激^[21],同时HIF-2 α 直接促进IL-6、TNF- α 等促炎性细胞因子的转录^[22]。本研究中,HIF-2 α 稳定剂FG-4592能够部分逆转芒柄花素对氧化应激及炎症指标的影响,提示芒柄花素可能通过抑制HIF-2 α /EPO信号通路减轻红细胞增多引起的氧化应激和炎症反应。

综上所述,芒柄花素能抑制慢性高原病模型大鼠的红细胞过度增多,减轻氧化应激及炎症反应,可能与抑制HIF-2 α /EPO信号通路有关。但本研究中FG-4592并非HIF-2 α 的特异性激活剂,且缺乏阳性对照,后续将设置阳性对照药物(如乙酰唑胺),通过基因敲除或过表达技术,并结合HIF-1 α 相关通路,进一步验证芒柄花素作用的特异性靶点,以期为其在慢性高原病中的临床应用提供新的理论依据。

参考文献

- [1] 罗秀勇,耿惠.慢性高原病的发病机制、诊断及治疗进展[J].临床医学进展,2022,12(4):3005-3009.
- [2] 何莉莎,李雪萍,郑川.中医药防治高原病研究现状及未来发展策略[J].中华中医药杂志,2025,40(4):1838-1843.
- [3] 陶文迪,田秀玉,李茂星,等.黄芪水提取物对高原缺氧大鼠运动能力的影响[J].解放军医药杂志,2019,31(12):12-18.
- [4] 郭涛,陈柏霖,杨道,等.刺芒柄花素通过下调P53/SAT1/ACSL4介导的铁死亡改善新生小鼠缺氧缺血性脑损伤[J].南方医科大学学报,2026,46(3):604-614.
- [5] 李恒.豆科植物红三叶草提取物刺芒柄花素联合运动减轻心梗大鼠心肌损伤的研究[J].分子植物育种,2025,23(1):254-263.
- [6] Yang M, Zhu M M, Song K, et al. VHL gene methylation contributes to excessive erythrocytosis in chronic mountain sickness

- rat model by upregulating the HIF-2 α /EPO pathway[J]. *Life Sciences*, 2021, 266: 118873.
- [7] 安加提·艾尼瓦尔, 迪丽努尔·买买提依明, 伊力亚尔·尼加提, 等. 黑种草子提取物对慢性高原病大鼠心脏损伤的影响[J]. *山东医药*, 2022, 62(25): 39-42, 51.
- [8] Li K, Luobu G, Wu P, et al. Ameliorating effects of the HIF-2 α inhibitor PT2385 on high-altitude polycythemia[J]. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2024, 201: 106857.
- [9] 卢迎宏, 王 丹, 井海云, 等. 芒柄花素对大鼠心肌缺血再灌注损伤的影响及其机制[J]. *中国老年学杂志*, 2023, 43(5): 1147-1151.
- [10] Qu N, Chen L, Liang S S, et al. Roxadustat attenuates the disruption of epithelial tight junction in Caco2 cells and a rat model of CKD through microRNA-223[J]. *Frontiers in Medicine*, 2022, 9: 850966.
- [11] Lan H X, Qiu W, Wu J, et al. Formononetin reverses Treg/Th17 imbalance in immune-mediated bone marrow failure mice by regulating the PI3K/Akt signaling pathway[J]. *Chinese Medicine*, 2024, 19(1): 55.
- [12] Hou B, Su S S, Ji L, et al. Luteolin alleviates right ventricular hypertrophy in high altitude pulmonary hypertension rats by regulating PI3K/AKT/mTOR signalling pathway[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2025, 1003: 177898.
- [13] Wu P W, Li X, Long W J, et al. The gut-kidney axis in high-altitude hypoxia: Pathophysiological mechanisms and the central role of hypoxia inducible factor[J]. *Annals of Medicine*, 2025, 57(1): 2557514.
- [14] El Hoss S, Shangaris P, Brewin J, et al. Reduced GATA1 levels are associated with ineffective erythropoiesis in sickle cell anemia[J]. *Haematologica*, 2025, 110(5): 1150-1163.
- [15] 刘 芳, 魏 巍, 丁 谨, 等. HIF-2 α 对高原红细胞增多症模型大鼠骨髓 CD71+细胞 GATA-1 表达的影响[J]. *中华血液学杂志*, 2016, 37(8): 696-701.
- [16] Guo M Q, Xu W W, Bai Z F, et al. Structure-based optimization of HIF-2 α agonists that synergistically enhance erythropoietin production with PHD inhibitors[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2025, 68(20): 21346-21365.
- [17] Zhong Y, Zhang F Y, Li Q Y, et al. Hematological characteristics, oxidative stress, and patient-reported symptoms in Tibetan patients with chronic mountain sickness at 4500 m altitude[J]. *Frontiers in Physiology*, 2025, 16: 1661738.
- [18] Li X Y, Zhang S J, Qiu Y H, et al. Tibetan medicine Bawei Chenxiang Wan attenuates chronic mountain sickness by targeting the AKT/FOXO3a/CAT axis to inhibit oxidative stress[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2026, 364: 121481.
- [19] Zhang W H, Zhao L, Cui J, et al. Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells ameliorate high altitude-induced heart injury by promoting type 2 macrophage polarization via COX2-PGE2 pathway[J]. *Frontiers in Immunology*, 2025, 16: 1538046.
- [20] Zhang Q, Zhang F Y, Zhong Y, et al. Hydrogen-rich water supplementation attenuates oxidative stress and inflammation in chronic high-altitude disease patients: A double-blind randomized placebo-controlled study[J]. *Food Research International*, 2025, 219: 117118.
- [21] Lin Y S, Shen Y J, Ou P H, et al. HIF-1 α -mediated, NADPH oxidase-derived ROS contributes to laryngeal airway hyperreactivity induced by intermittent hypoxia in rats[J]. *Frontiers in Physiology*, 2020, 11: 575260.
- [22] Huang J R, Zhao D H. The effect of HIF-2 α on the development of inflammation[J]. *International Journal of Inflammation*, 2025, 2025: 9092758.

(本文编辑 苏 维)