

基于TGF- β 1/Smad3信号通路探讨黄芪多糖对阿霉素诱导的AC16心肌细胞凋亡的影响



汪 对, 党莉娟, 张 强, 赵晓彬, 李晓宇, 张正峰

白银市第一人民医院基础实验室 (甘肃白银 730900)

【摘要】目的 基于转化生长因子 β 1 (TGF- β 1)/SMAD 家族成员 3 (Smad3) 信号通路探讨黄芪多糖对阿霉素诱导的心肌细胞损伤的影响。**方法** 将 AC16 心肌细胞随机分为空白组、模型组、黄芪多糖组、阳性对照组。除空白组, 其余各组用阿霉素 (1 μ mol/L) 刺激构建心肌细胞损伤模型, 黄芪多糖组 (50 μ mol/L 黄芪多糖) 和阳性对照组 (10 μ mol/L 厄贝沙坦) 处理细胞 24 h, 用 CCK-8 法检测细胞活力; Western Blot 法检测各组 AC16 细胞中 TGF- β 1 受体 1 (TGF- β R1)、Smad3、磷酸化 Smad3 (p-Smad3)、 α -平滑肌肌动蛋白 (α -SMA)、胶原蛋白 I (collagen-I) 蛋白的表达; 流式细胞仪检测 AC16 心肌细胞凋亡。**结果** 与空白组相比, 模型组细胞的增殖能力降低, TGF- β R1、p-Smad3、 α -SMA、collagen-I 蛋白表达水平以及细胞凋亡水平显著增加 ($P < 0.01$)。与模型组相比, 黄芪多糖组和阳性对照组细胞增殖能力升高, TGF- β R1、p-Smad3、 α -SMA、collagen-I 蛋白表达水平以及细胞凋亡水平下降 ($P < 0.01$)。各组间 Smad3 蛋白表达水平差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。**结论** 黄芪多糖能够降低 TGF- β R1、p-Smad3 蛋白表达水平, 减少细胞凋亡, 改善阿霉素所致的心肌损伤, 减轻心脏毒性。

【关键词】 黄芪多糖; 阿霉素; 心肌损伤; TGF- β 1/Smad3 信号通路; 中医; AC16; 心肌细胞; 凋亡

【中图分类号】 R285.5

【文献标识码】 A

Exploring the effect of astragalus polysaccharides on adriamycin-induced apoptosis of AC16 cardiomyocytes based on the TGF- β 1/Smad3 signaling pathway

WANG Dui, DANG Lijuan, ZHANG Qiang, ZHAO Xiaobin, LI Xiaoyu, ZHANG Zhengfeng

Basic Laboratory, The First People's Hospital of Baiyin, Baiyin 730900, Gansu Province, China

Corresponding author: DANG Lijuan, Email: 1440579747@qq.com

【Abstract】Objective To investigate the effect of astragalus polysaccharides on doxorubicin-induced cardiomyocyte injury based on transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1)/SMAD family member 3 (Smad3) signaling pathway. **Methods** AC16 cardiomyocytes were randomly divided into a blank group, a model group, an astragalus polysaccharide group, and a positive control group. Except for the blank group, other groups were stimulated with doxorubicin (1 μ mol/L) to construct a cardiomyocyte injury model. Cells in the astragalus polysaccharide group (50 μ mol/L astragalus polysaccharide) and the positive control group (10 μ mol/L irbesartan) were treated for 24 h. Cell viability was detected by the CCK-8 assay. Western blot was used to detect the expression of TGF- β

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202503061

基金项目: 甘肃省科技计划资助项目 (24RCKD001); 白银市第一人民医院青年基金项目 (2022YQ-02)

通信作者: 党莉娟, 主治医师, Email: 1440579747@qq.com

<https://yxqy.whuzhmedj.com>

receptor 1 (TGF- β R1), Smad3, p-Smad3, α -smooth muscle actin (α -SMA), and collagen-I proteins in AC16 cells in each group. Flow cytometry was used to detect the apoptosis of AC16 cardiomyocytes. **Results** Compared with the blank group, the proliferation ability of the model group decreased, while the expression levels of TGF- β R1, p-Smad3, α -SMA, collagen-I protein, and the levels of apoptosis increased significantly ($P < 0.01$). Compared with the model group, the proliferation ability of the astragalus polysaccharide group and positive control group was increased, while the expression levels of TGF- β R1, p-Smad3 α -SMA collagen-I protein, and the levels of apoptosis decreased ($P < 0.01$). There were no statistically significant differences in the expression levels of Smad3 among the groups ($P > 0.05$). **Conclusion** Astragalus polysaccharides can reduce the expression levels of TGF- β R1 and p-Smad3 proteins, reduce apoptosis, improve myocardial injury caused by doxorubicin, and reduce cardiotoxicity.

【Keywords】 Astragalus polysaccharides; Doxorubicin; Myocardial injury; TGF- β 1/Smad3 signaling pathway; Traditional Chinese medicine; AC16; Cardiomyocytes; Apoptosis

心力衰竭 (heart failure, HF) 是由心脏结构或功能异常引起的一种复杂临床综合征。作为各种心血管疾病的终末阶段, HF 患病率高、存活率低, 且对患者生活质量有深远影响, 给社会带来了沉重的医疗负担^[1]。HF 的临床综合征可由多种病理生理变化引发, 包括心肌缺血和梗死、压力或容量超负荷、代谢失调、肌节蛋白功能的遗传扰动以及对病毒感染的反应^[2]。研究发现心肌细胞纤维化是 HF 发生的主要因素, 会引起心肌细胞肥大和细胞凋亡, 最终导致 HF^[3-4]。转化生长因子 β 1 (transforming growth factor- β 1, TGF- β 1) 是一种促纤维化细胞因子, SMAD 家族成员 3 (Smad3) 为 TGF- β 1 在心肌纤维化发病机制中的关键介质, 是 TGF- β 1 的主要下游信号转导^[5-6]。近年来, 研究发现 TGF- β 1/Smad3 信号通路在心脏纤维化中起着重要作用^[7-8]。

一项动物研究表明, TGF- β 1 和磷酸化的 Smad3 (p-Smad3) 在心肌梗死大鼠中升高, 阻断 TGF- β 1/Smad3 轴可以恢复心脏功能并减轻心肌纤维化^[9]。多项研究表明, TGF- β 1/Smad3 信号通路参与 HF 的发生发展^[10-11]。因此, 靶向 TGF- β 1/Smad3 信号通路已成为 HF 的潜在治疗策略。黄芪多糖是黄芪的主要活性成分之一, 研究发现黄芪多糖能够通过抗心肌细胞凋亡、抗氧化应激、抗心肌纤维化等药理作用来保护心肌损害^[12]。另一研究发现黄芪多糖可以通过调控 TGF- β 1/Smad 信号通路来改善纤维化^[13]。本研究通过建立心肌细胞损伤模型, 探究黄芪多糖能否可以通过调控 TGF- β 1/Smad3 信号通路对心肌细胞发挥保护作用, 以期明确黄芪多糖治疗 HF 提供有效性证据和理论支持。

1 材料与方法

1.1 主要仪器

Heracell™ Vios 160i 二氧化碳培养箱 (赛默飞世尔科技); Infinite® 200 PRO 酶标仪 (帝肯); Experion 电泳仪 (伯乐); FACS Aria Fusion 流式细胞仪 (碧迪)。

1.2 主要药品与试剂

黄芪多糖 (上海源叶生物科技有限公司, 货号: B20562, 纯度: 98%); 阿霉素 (doxorubicin, DOX, 上海麦克林生化科技股份有限公司, 货号: D796842, 纯度: 98%); 厄贝沙坦片 (赛诺菲制药有限公司, 规格: 0.15 g, 批号: DA312); 胎牛血清 (货号: A5256701) 和达尔伯克改良伊格尔培养基 (dulbecco's modified eagle's medium, DMEM, 货号: 11966025) 购自美国 Gibco 公司; 抗体: TGF- β 受体 1 (TGF- β receptor 1, TGF- β R1, 货号: EpR20923-13)、Smad3 (货号: RLM3123)、p-Smad3 (货号: RLP0585)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH, 货号: 60004-1-Ig)、 α -平滑肌肌动蛋白 (α -smooth muscle actin, α -SMA, 货号: 14395-1-AP)、胶原蛋白 I (collagen-I, 货号: 67288-1-Ig)、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG (H+L) (货号: A0208)、辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠 IgG (H+L) (货号: A0216)、细胞凋亡检测试剂盒 (货号: CC1052) 均购自上海碧云天生物技术有限公司; 磷酸盐缓冲盐水 (phosphate buffered saline, PBS, 货号: G4202-100ML)、RIPA 裂解液 (货号:

G2002-30ML)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒(货号:G2026-200T)、含 EDTA 的胰蛋白酶(货号:G4001-100ML)、Binding Buffer (1×)(货号:G3005-1L)均购自赛维尔生物公司。

1.3 细胞

人心肌细胞 AC16 细胞系(中国科学院上海生科院细胞资源中心,货号:TCH-C119)。

1.4 方法

1.4.1 细胞培养、分组及处理

使用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基培养 AC16 心肌细胞,将其置于温度恒定为 37℃、CO₂ 浓度维持在 5% 且湿度饱和的恒温密闭式细胞培养箱内,开展常规的细胞培养操作以及传代流程,待细胞密度长至 80%~90% 左右,取对数生长期细胞用于后续实验。为筛选出适用于后续实验的 DOX 给药浓度,将细胞分别暴露于不同浓度(0、0.1、0.5、1、1.5、2 μmol/L)的 DOX 中,作用时长设置为 24 h 与 48 h,将 0 μmol/L 作为空白组。采用 CCK-8 法对细胞增殖情况进行检测,从而确定最佳的 DOX 损伤浓度及作用时间。将 AC16 细胞随机分为 4 组:空白组、模型组、黄芪多糖组和阳性对照组。除空白组外,其余各组细胞采用 1 μmol/L DOX 刺激以构建心肌细胞损伤模型。心肌细胞损伤模型建立后,使用不同浓度的黄芪多糖(0、12.5、25、50、100 μmol/L)作用于 AC16 细胞 24 h 及 48 h, CCK-8 检测细胞活力并筛选黄芪多糖最佳干预浓度,阳性对照组在 DOX 刺激的同时给予 10 μmol/L 厄贝沙坦进行干预^[14],处理时间均为 24 h。

1.4.2 CCK-8法检测细胞活力

采用 CCK-8 试剂盒检测细胞活力,将处于对数生长期的 AC16 细胞悬浮液接种于 96 孔板中,每孔 100 μL,24 h 后按照组别给与相应处理,每组 10 个复孔,重复 3 次,待药物干预完成后向每孔加入 10 μL 的 CCK8 试剂,置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中孵育 1.5 h,放置于酶标仪中,读取 450 nm 波长下的光密度(OD)值,并计算出各组的细胞活力,相对细胞活力计算公式为:(实验组平均 OD 值-空白组平均 OD 值)/(对照组平均 OD 值-空白组平均 OD 值),式中实验组为接受不同药物处理的各组细胞;对照组为未经药物处理的正常细胞组;空白组为不含细胞、但含有等体积培养基和 CCK-8 试剂的孔。

1.4.3 Western Blot法检测各组AC16细胞TGF-βR1、Smad3、p-Smad3、α-SMA及collagen-I蛋白的表达水平

采用 Western Blot 法检测相关蛋白表达,收集处理后的细胞,用预冷的 PBS 洗涤 1~2 次。吸弃 PBS,每孔加入 100 μL RIPA 裂解液,置于冰上裂解 30 min。随后在 4℃ 条件下 3 000×g 离心 15 min,收集上清液并分装于 1.5 mL 流式细胞仪 LEP 管中,置于-80℃保存。使用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒对样品蛋白浓度进行测定,经 SDS-PAGE 电泳技术对样品蛋白进行分离操作。分离结束后将蛋白转印至 PVDF 膜上,用封闭液于室温条件下封闭处理 2 h。随后,加入一抗(TGF-βR1、Smad3、p-Smad3、GAPDH、α-SMA、collagen-I),稀释比例均为 1:2 000,在 4℃ 环境中孵育过夜。次日,加入二抗(山羊抗兔 IgG、山羊抗小鼠 IgG,稀释比例为 1:4 000),于室温下孵育 60 min。再次洗膜后,使用 ECL 化学发光法显影曝光目的条带,使用 Image J 软件分析目的条带的灰度值,计算 TGF-βR1、Smad3、p-Smad3、α-SMA、collagen-I 蛋白的相对表达水平。

1.4.4 流式细胞术检测AC16心肌细胞凋亡

采用 Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒检测细胞凋亡,模型建立成功后,将孔板中的培养液吸取至 15 mL 离心管,同时做好标记。用预冷的 PBS 轻柔洗涤细胞 2 次,加入 1 mL 含 EDTA 的胰蛋白酶进行细胞消化。待细胞消化充分,通过吹打使细胞分散均匀,将所得细胞悬液连同之前的冲洗液,一同收集至对应的离心管,900×g 离心 3 min 后弃上清液,重复操作 2 次。每组样本加入 300 μL Binding Buffer (1×),使用移液枪充分重悬细胞并将其吸取至另一 1.5 mL EP 管。在 EP 管中加入 5 μL Annexin V-FITC,混匀后将 EP 管置于室温避光环境下孵育 15 min。15 min 孵育结束后,向 EP 管内加入 5 μL PI 染液,避光孵育 5 min。最后,再检测前 5 min 添加 200 μL Binding Buffer (1×) 补足体系,轻轻混匀后,立即置于流式细胞仪中检测各组细胞凋亡率。采用流式细胞仪和 FlowJo 软件分析细胞凋亡。

1.5 统计学分析

所有数据使用 GraphPad Prism 9.0.2 统计软件进行分析,计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较用非配对单因素方差

分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度DOX对AC16心肌细胞增殖率的影响

使用不同浓度的 DOX 作用于 AC16 细胞 24 h 及 48 h 后均降低了 AC16 细胞的增殖, 与空白组比较, 1、1.5、2 $\mu\text{mol/L}$ 组下降更明显 ($P < 0.05$), 并且随着 DOX 给药浓度的升高, 细胞增殖率逐渐降低, 呈现出明显的浓度依赖性。研究结果表明在 1 $\mu\text{mol/L}$ DOX 干预 24 h 后细胞存活率在 60% 左右效果最佳, 因此选择 1 $\mu\text{mol/L}$ DOX 干预 24 h 进行后续实验。具体见图 1。

2.2 黄芪多糖最佳干预浓度筛选

使用不同浓度的黄芪多糖作用于 AC16 细胞 24 h 及 48 h 后, 25、50 $\mu\text{mol/L}$ 浓度组的细胞活力较空白组显著提升 ($P < 0.05$), 且呈浓度依赖性; 100 $\mu\text{mol/L}$ 组活力回落。其中 50 $\mu\text{mol/L}$ 干预 24 h 后细胞活力提升最显著 (保护效果最佳), 故选择该浓度与干预时长开展后续实验。具体见图 2。

2.3 各组AC16心肌细胞中 α -SMA、Smad3、p-Smad3、TGF- β R1、collagen-I蛋白表达情况

用 1 $\mu\text{mol/L}$ DOX 干预 AC16 细胞 24 h 后, 使用黄芪多糖 (50 $\mu\text{mol/L}$) 和厄贝沙坦 (10 $\mu\text{mol/L}$) 分别干预 24 h 后进行蛋白提取, Western Blot 实验结果显示: 相比于空白组, 模型组中 TGF- β R1、p-Smad3、 α -SMA、collagen-I 蛋白表达水平均显

著上调 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 黄芪多糖组和阳性对照组中 TGF- β R1、p-Smad3、 α -SMA、collagen-I 蛋白表达水平均显著下调 ($P < 0.01$); 各组间 Smad3 蛋白表达水平差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。具体见图 3。

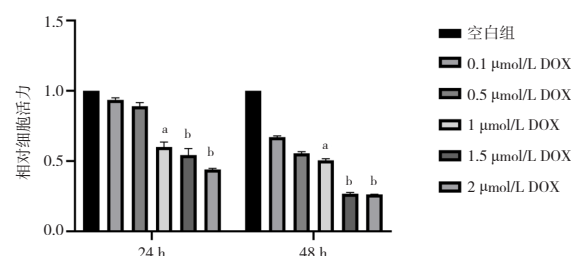


图1 不同浓度DOX分别作用24 h及48 h后 AC16细胞的存活率 ($n=3$)

Figure 1. Survival rates of AC16 cells after 24 hours and 48 hours of treatment with different concentrations of DOX ($n=3$)

注: 与空白组比较, $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ 。

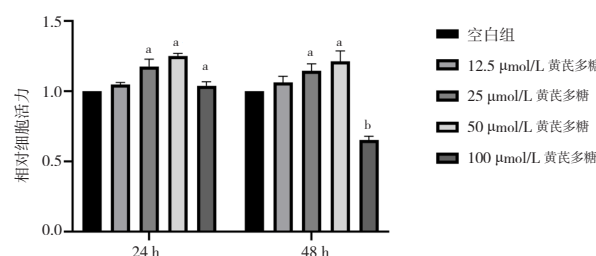


图2 不同浓度黄芪多糖分别作用24 h及48 h后 AC16细胞的增殖 ($n=3$)

Figure 2. Proliferation rate of AC16 cells after 24 hours and 48 hours of treatment with different concentrations of Astragalus polysaccharide ($n=3$)

注: 与空白组相比, $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ 。

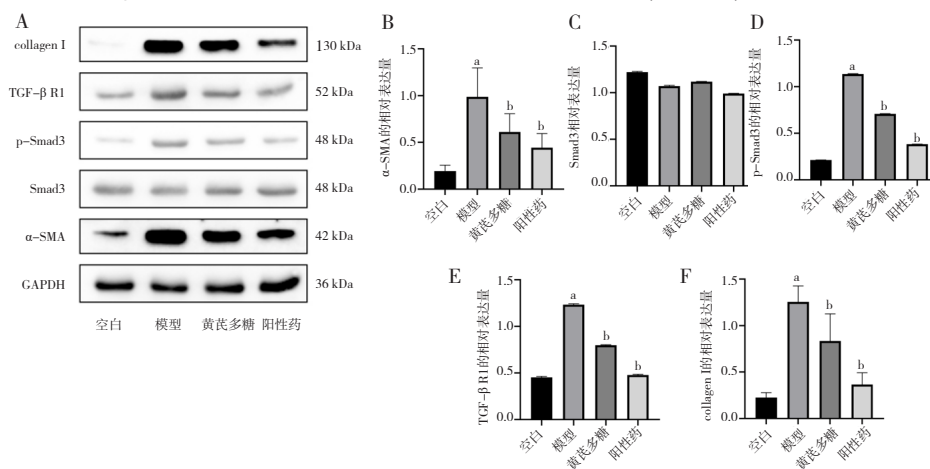


图3 各组AC16心肌细胞 α -SMA、Smad3、p-Smad3、TGF- β R1、collagen-I蛋白表达情况及蛋白相对表达量 ($n=3$)

Figure 3. Expression and relative expression levels of α -SMA, Smad3, p-Smad3, TGF- β R1, and collagen-I proteins in AC16 cardiomyocytes of each group ($n=3$)

注: A. α -SMA、TGF- β R1、Smad3、p-Smad3、collagen-I蛋白条带图; B~F. α -SMA、Smad3、p-Smad3、TGF- β R1及collagen-I蛋白相对表达量; 与空白组相比, $^aP < 0.01$; 与模型组相比, $^bP < 0.01$ 。

2.4 各组AC16心肌细胞凋亡情况

用 1 $\mu\text{mol/L}$ DOX 干预 AC16 细胞 24 h 后, 使用黄芪多糖 (50 $\mu\text{mol/L}$) 和厄贝沙坦 (10 $\mu\text{mol/L}$) 分别干预 AC16 心肌细胞 24 h, 采用流式细胞术

检测各组细胞凋亡情况。与空白组比较, 模型组中细胞凋亡水平显著上调 ($P<0.01$); 与模型组比较, 黄芪多糖组和阳性对照组中细胞凋亡水平显著下调 ($P<0.01$)。结果见图 4。

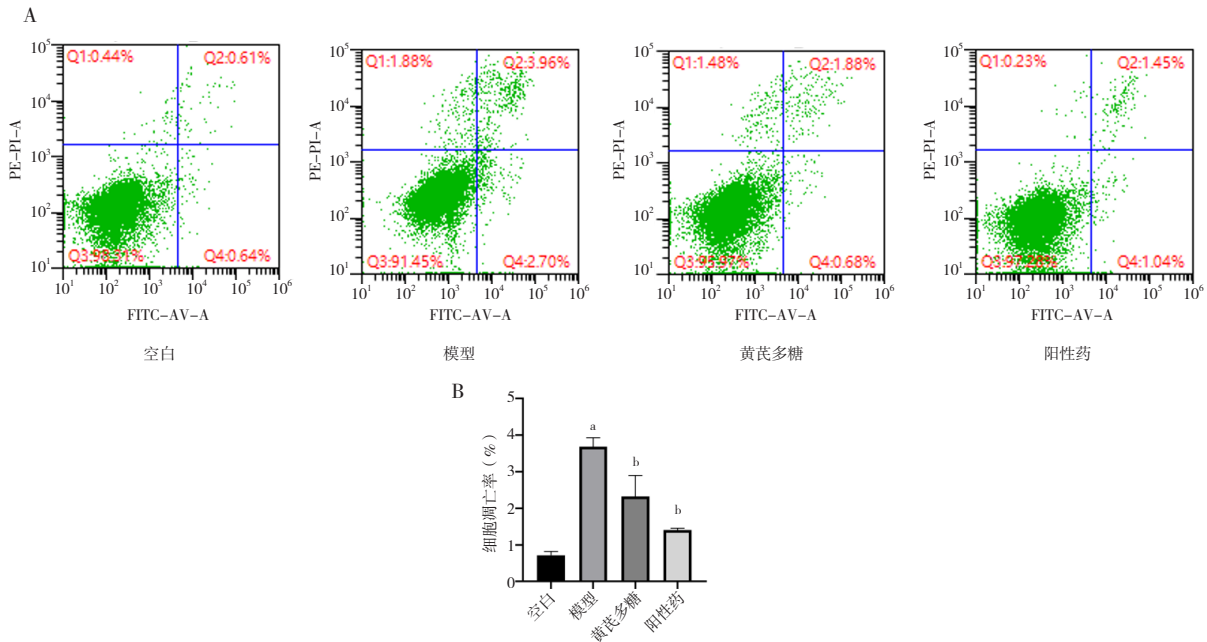


图4 各组AC16心肌细胞凋亡水平 ($n=3$)

Figure 4. Apoptosis levels of AC16 cardiomyocytes in each group ($n=3$)

注: A. AC16流式细胞图; B. AC16细胞的凋亡率; 与空白组比较, ^a $P<0.01$; 与模型组比较, ^b $P<0.01$ 。

3 讨论

HF 是多种心血管疾病的终期阶段, 死亡率高^[15]。其发生通常源于心肌损伤和心肌结构和功能改变, 最终导致心室充盈功能低下或泵血, 其中纤维化成为组织僵硬和功能障碍的关键因素^[16]。目前 HF 的常规治疗方法包括利尿剂、血管紧张素转换酶抑制剂、血管紧张素受体阻滞剂、 β 阻滞剂等^[17]。然而, 由于即使按照官方指南的推荐进行治疗, 心肌纤维化仍然持续存在, 无法有效降低再住院率和死亡率^[18]。因此, 需要探索心肌纤维化的潜在病理机制, 开发新的治疗药物, 以提高 HF 患者的生存率和生活质量。近年来, 大量研究证实中药和植物化学物质具有毒性小、治疗效果明显、生物相容性高、多靶点等优点, 已被证明能够改善 HF 患者的症状和增强心脏功能, 减少药物的不良反应, 并在患者的预后中发挥积极作用^[19]。尤其值得注意的是, 在心肌纤维化进程中, α -SMA 作为肌成纤维细胞活化的关键标志物, 其表达上调直接促进细胞外基质过度沉积; 而 collagen-I 则是细胞外基质中最主要

的纤维性胶原, 其过度积累直接导致心肌僵硬增加与舒张功能障碍^[20]。因此, 干预 α -SMA 与 collagen-I 的表达已成为抗纤维化治疗的重要作用靶点。

TGF- β 是 HF 发生发展的关键影响因子, 作为一种多功能生长因子, 参与调节发育、疾病和组织修复等多个关键过程。其作为 TGF- β 超家族的核心成员, TGF- β 1 被认为是纤维化发生的核心介质, 在纤维化疾病中被激活和升高^[21]。TGF- β 1 可与其受体 TGF- β R1 和 TGF- β R2 结合, 调节细胞内信号转导并发挥多种生物学效应^[22]。TGF- β R1 是 TGF- β 1 不可替代的下游分子, 参与细胞的整个生命周期, 包括细胞运动、分化、吸附、裂变和死亡, 缺乏 TGF- β R1 的突变细胞无法对 TGF- β 1 作出反应, 这会进一步影响 TGF- β 1 信号转导通路的转导^[23]。Smad3 是心肌纤维化中 TGF- β 1 信号通路的关键下游介质, 其可被 TGF- β 1 激活的 TGF- β R1 磷酸化并进入细胞核, 从而介导靶基因的转录^[24]。多项研究表明, TGF- β 1/Smad3 信号通路参与心衰的发生发展, 且通过抑制 TGF- β 1/Smad3 信号通路可减轻心肌纤维化, 减少细胞

凋亡,从而阻止心衰的进展^[25]。例如 Li 等^[26]的研究中发现,吡非尼酮可以通过抑制 TGF- β 1/Smad3 信号通路来减轻压力超负荷诱导的心脏纤维化。在另外一项研究中,发现槲皮素可通过减弱 TGF- β 1/Smad3 信号通路来预防大鼠心肌梗死后不良重构^[27]。因此,本研究选择 TGF- β 1/Smad3 通路上的 TGF- β R1、Smad3、p-Smad3 蛋白作为研究对象,旨在探讨黄芪多糖治疗 HF 的作用机制。本研究结果表明,DOX 处理后 AC16 心肌细胞中 TGF- β R1 和 p-Smad3 蛋白表达水平均显著上调,提示 DOX 诱导的心肌细胞损伤与 TGF- β R1 和 p-Smad3 通路的异常激活密切相关;而黄芪多糖干预后,TGF- β R1 和 p-Smad3 的表达水平明显降低,证实黄芪多糖可通过抑制该通路的过度激活,减少心肌细胞凋亡,进而减轻 DOX 所致的心肌毒性。

从中医理论角度分析, HF 的病机演变与黄芪多糖的功效应用高度契合。中医认为心主身之血脉,因年老久衰、过劳少逸、内伤情志、外感病邪等病因可导致心体亏虚,心气不足难以推动心血运行,久而瘀血内生,日久血病累气,心气亏虚,最终导致气虚血瘀相互胶结而发为 HF^[28]。中医学从整体观念出发,立足于 HF 本虚标实的病机,根据不同临床症状给予益气活血、益气温阳、益气养阴等治疗方法,该法在改善患者症状及临床预后方面疗效确切且不良反应少^[29]。作为甘温滋补药的代,黄芪具有补气活血之效,常用于气血不足、正虚不固之证,契合 HF “气虚血瘀”的病机核心。临床研究已表明,黄芪复方、加减方、中药制剂及联合西药可显著改善 HF^[30],例如研究证实黄芪注射液联合西医治疗在改善心脏泵血功能、调节心肌损伤标志物及提升运动耐量等方面具有协同增效作用^[31],因此,深入研究黄芪的有效成分在心血管疾病防治领域具有显著的临床应用价值。黄芪多糖作为黄芪的主要活性成分,目前,黄芪多糖对心血管疾病的保护作用已有多项报道,表明黄芪多糖能够通过影响转录因子、黏附因子的表达,信号通路的激活抑制等方面,达到对心血管疾病的保护作用^[32]。例如 Cao 等^[33]的研究表明,黄芪多糖可通过调节腺苷酸激活蛋白激酶/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白途径,以缓解 DOX 诱导的大鼠心肌细胞损伤模型和 HF 模型小鼠的细胞过度凋亡,进而延缓 HF 的发生

发展。在朱晓雨^[34]的研究中发现,黄芪多糖可通过调控 TGF- β 1/Smads 信号通路缓解异丙肾上腺素诱导的心肌纤维化。本研究进一步证明,黄芪多糖对 TGF- β 1/Smad3 通路的调控作用,本质上是其“补气活血”功效在分子层面的具象化体现,即通过抑制通路异常激活减轻心肌纤维化,对应中医“活血”以散瘀阻、改善心肌微循环;通过减少心肌细胞凋亡保护心脏功能,对应中医“补气”以扶正气、修复受损心体,实现了中医理论与现代分子机制的有机结合。

综上所述,本研究提示黄芪多糖能够明显改善 DOX 所导致的心脏毒性,其机制可能与调控 TGF- β 1/Smad3 信号通路来抑制心肌细胞凋亡有关,该研究为治疗 HF 提供了新的思路与参考。然而本研究仍存在局限性,黄芪多糖对 HF 的保护作用可能还涉及其他途径,且未探讨其对 TGF- β 1/Smad3 通路上下游其他分子的影响。后续研究需进一步开展动物体内实验及临床研究,明确黄芪多糖的最佳给药剂量和给药时机,并深入挖掘其多靶点协同作用机制。

参考文献

- 1 Di Palo KE, Barone NJ. Hypertension and heart failure: prevention, targets, and treatment[J]. *Cardiol Clin*, 2022, 40(2): 237–244. DOI: [10.1016/j.ccl.2021.12.011](https://doi.org/10.1016/j.ccl.2021.12.011).
- 2 Hanna A, Frangogiannis NG. Inflammatory cytokines and chemokines as therapeutic targets in heart failure[J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2020, 34(6): 849–863. DOI: [10.1007/s10557-020-07071-0](https://doi.org/10.1007/s10557-020-07071-0).
- 3 Su C, Wang Q, Luo H, et al. Si-Miao-Yong-An decoction attenuates cardiac fibrosis via suppressing TGF- β 1 pathway and interfering with MMP-TIMPs expression[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 127: 110132. DOI: [10.1016/j.biopha.2020.110132](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110132).
- 4 Zeng Z, Wang Q, Yang X, et al. Qishen granule attenuates cardiac fibrosis by regulating TGF- β /Smad3 and GSK-3 β pathway[J]. *Phytomedicine*, 2019, 62: 152949. DOI: [10.1016/j.phymed.2019.152949](https://doi.org/10.1016/j.phymed.2019.152949).
- 5 Kaňuchová M, Urban L, Melegová N, et al. Genistein does not inhibit TGF- β 1-induced conversion of human dermal fibroblasts to myofibroblasts[J]. *Physiol Res*, 2021, 70(5): 815–820. DOI: [10.33549/physiolres.934666](https://doi.org/10.33549/physiolres.934666).
- 6 Kim S, Han JH, Kim S, et al. p90RSK inhibition ameliorates TGF- β 1 signaling and pulmonary fibrosis by inhibiting smad3 transcriptional activity[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2020, 54(2): 195–210. DOI: [10.33594/000000214](https://doi.org/10.33594/000000214).
- 7 Yin L, Liu MX, Li W, et al. Over-expression of inhibitor of differentiation 2 attenuates post-infarct cardiac fibrosis through inhibition of TGF- β 1/SMAD3/HIF-1 α /IL-11 signaling

- pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 1349. DOI: [10.3389/fphar.2019.01349](https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01349).
- 8 Zeng Z, Wang Q, Yang X, et al. Qishen granule attenuates cardiac fibrosis by regulating TGF- β /Smad3 and GSK-3 β pathway[J]. *Phytomedicine*, 2019, 62: 152949. DOI: [10.1016/j.phymed.2019.152949](https://doi.org/10.1016/j.phymed.2019.152949).
- 9 Han A, Lu Y, Zheng Q, et al. Qiliqiangxin attenuates cardiac remodeling via inhibition of TGF- β 1/Smad3 and NF- κ B signaling pathways in a rat model of myocardial infarction[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 45(5): 1797–1806. DOI: [10.1159/000487871](https://doi.org/10.1159/000487871).
- 10 Zhang Y, Chen B. Silencing circ_0062389 alleviates cardiomyocyte apoptosis in heart failure rats via modulating TGF- β 1/Smad3 signaling pathway[J]. *Gene*, 2021, 766: 145154. DOI: [10.1016/j.gene.2020.145154](https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.145154).
- 11 Lai Q, Liu FM, Rao WL, et al. Aminoacylase-1 plays a key role in myocardial fibrosis and the therapeutic effects of 20(S)-ginsenoside Rg₃ in mouse heart failure[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2022, 43(8): 2003–2015. DOI: [10.1038/s41401-021-00830-1](https://doi.org/10.1038/s41401-021-00830-1).
- 12 武思晴, 苗明三, 苗晋鑫. 中药多糖改善心肌缺血再灌注损伤的作用机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2025, 31(9): 277–288. [Wu SQ, Miao MS, Miao JX. Mechanism of traditional Chinese medicine polysaccharide in ameliorating myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. *Chinese Journal of Experimental Materia Medica*, 2025, 31(9): 277–288.] DOI: [10.13422/j.cnki.syfjx.20241921](https://doi.org/10.13422/j.cnki.syfjx.20241921).
- 13 张慧, 罗进辉, 杨柳, 等. 黄芪多糖调节 TGF- β 1/Smad/AP-1 信号通路对慢性肾衰竭大鼠肾纤维化的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2024, 44(16): 4040–4044. [Zhang H, Luo JH, Yang L, et al. Effects of astragalus polysaccharides on renal fibrosis in chronic kidney disease rats by regulating TGF- β 1/SmadAP-1 signaling pathway[J]. *Chinese Journal of Gerontology*, 2024, 44(16): 4040–4044.] DOI: [CNKI:SUN:ZLXZ.0.2024-16-046](https://doi.org/10.13422/j.cnki.sylx.2024-16-046).
- 14 Boccellino M, Di Domenico M, Donniacuo M, et al. AT1-receptor blockade: Protective effects of irbesartan in cardiomyocytes under hypoxic stress[J]. *PLoS One*, 2018, 13(10): e0202297. DOI: [10.1371/journal.pone.0202297](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202297).
- 15 Qi P, Zhai Q, Zhang X. RUNX1 facilitates heart failure progression through regulating TGF- β -induced cardiac remodeling[J]. *PeerJ*, 2023, 11: e16202. DOI: [10.7717/peerj.16202](https://doi.org/10.7717/peerj.16202).
- 16 González A, Schelbert EB, Díez J, et al. Myocardial interstitial fibrosis in heart failure: biological and translational perspectives[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2018, 71(15): 1696–1706. DOI: [10.1016/j.jacc.2018.02.021](https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.02.021).
- 17 Jia Q, Wang L, Zhang X, et al. Prevention and treatment of chronic heart failure through traditional Chinese medicine: role of the gut microbiota[J]. *Pharmacol Res*, 2020, 151(4): 104–115. DOI: [10.1016/j.phrs.2019.104552](https://doi.org/10.1016/j.phrs.2019.104552).
- 18 Wintrich J, Kindermann I, Ukena C, et al. Therapeutic approaches in heart failure with preserved ejection fraction: past, present, and future[J]. *Clin Res Cardiol*, 2020, 109(9): 1079–1098. DOI: [10.1007/s00392-020-01633-w](https://doi.org/10.1007/s00392-020-01633-w).
- 19 Zhang L, Li Y, Fan CD, et al. Chinese medicinal formula Fu Xin decoction against chronic heart failure by inhibiting the NLRP3/caspase-1/GSDMD pyroptotic pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 174: 116548. DOI: [10.1016/j.biopha.2024.116548](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2024.116548).
- 20 VH, Titus AS, Cowling RT, et al. Collagen receptor cross-talk determines α -smooth muscle actin-dependent collagen gene expression in angiotensin II-stimulated cardiac fibroblasts[J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(51): 19723–19739. DOI: [10.1074/jbc.RA119.009744](https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.009744).
- 21 Feng F, Li N, Cheng P, et al. Tanshinone IIA attenuates silica-induced pulmonary fibrosis via inhibition of TGF- β 1-Smad signaling pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 121: 109586. DOI: [10.1016/j.biopha.2019.109586](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109586).
- 22 Chen K, Chen W, Liu SL, et al. Epigallocatechingallate attenuates myocardial injury in a mouse model of heart failure through TGF β 1/Smad3 signaling pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(6): 7652–7660. DOI: [10.3892/mmr.2018.8825](https://doi.org/10.3892/mmr.2018.8825).
- 23 Wang J, Xiang H, Lu Y, et al. Role and clinical significance of TGF β 1 and TGF β R1 in malignant tumors (review)[J]. *Int J Mol Med*, 2021, 47(4): 55. DOI: [10.3892/ijmm.2021.4888](https://doi.org/10.3892/ijmm.2021.4888).
- 24 Zhang F, Dang Y, Li Y, et al. Cardiac contractility modulation attenuate myocardial fibrosis by Inhibiting TGF- β 1/Smad3 signaling pathway in a rabbit model of chronic heart failure[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 39(1): 294–302. DOI: [10.1159/000445624](https://doi.org/10.1159/000445624).
- 25 Ren Y, Wu Y, He W, et al. SMOC2 plays a role in heart failure via regulating TGF- β 1/Smad3 pathway-mediated autophagy[J]. *Open Med (Wars)*, 2023, 18(1): 20230752. DOI: [10.1515/med-2023-0752](https://doi.org/10.1515/med-2023-0752).
- 26 Li N, Hang W, Shu H, et al. Pirfenidone alleviates cardiac fibrosis induced by pressure overload via inhibiting TGF- β 1/Smad3 signalling pathway[J]. *J Cell Mol Med*, 2022, 26(16): 4548–4555. DOI: [10.1111/jcmm.17478](https://doi.org/10.1111/jcmm.17478).
- 27 Albadrani GM, BinMowyna MN, Bin-Jumah MN, et al. Quercetin prevents myocardial infarction adverse remodeling in rats by attenuating TGF- β 1/Smad3 signaling: different mechanisms of action[J]. *Saudi J Biol Sci*, 2021, 28(5): 2772–2782. DOI: [10.1016/j.sjbs.2021.02.007](https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.02.007).
- 28 施敏, 魏佳明, 袁惠, 等. 黄芪活性成分治疗心力衰竭作用机制的研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(3): 208–217. [Shi M, Wei JM, Yuan H, et al. Mechanism of active ingredients of astragalus membranaceus in treating heart failure: a review[J]. *Chinese Journal of Experimental Materia Medica*, 2024, 30(3): 208–217.] DOI: [10.13422/j.cnki.syfjx.20231102](https://doi.org/10.13422/j.cnki.syfjx.20231102).
- 29 林姗姗. 慢性心力衰竭中医诊疗指南的制定研究[D]. 天津: 天津中医药大学, 2021: 115–122. DOI: [10.27368/d.cnki.gtzyy.2021.000338](https://doi.org/10.27368/d.cnki.gtzyy.2021.000338).
- 30 李江平. 黄芪联合丹参川芎嗪治疗慢性充血性心力衰竭疗效观察[J]. *中国医药科学*, 2020, 10(18): 72–74, 78. [Li JP. Observation on the therapeutic efficacy of astragalus combined with salvia miltiorrhiza ligustrazine in patients with chronic congestive heart failure[J]. *China Medicine and Pharmacy*, 2020, 10(18): 72–74, 78.] DOI: [10.3969/j.issn.2095-0616.2020.18.017](https://doi.org/10.3969/j.issn.2095-0616.2020.18.017).

- 31 潘金萍, 杨小英, 伍燕宏, 等. 黄芪防治心血管疾病研究进展 [J]. 河南中医, 2025, 45(10): 1612–1620. [Pan JP, Yang XY, Wu YH, et al. Research progress on the prevention and treatment of cardiovascular diseases with Huangqi[J]. Henan Chinese Medicine, 2025, 45(10): 1612–1620.] DOI: [10.16367/j.issn.1003-5028.2025.10.0262](https://doi.org/10.16367/j.issn.1003-5028.2025.10.0262).
- 32 李珍一, 杨关林, 闫承慧, 等. 黄芪多糖应用的相关研究进展[J]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(7): 1553–1555. [Li ZY, Yang GL, Yan CH, et al. Research progress on application of astragalus polysaccharides[J]. Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine, 2016, 43(7): 1553–1555.] DOI: [10.13192/j.issn.1000-1719.2016.07.068](https://doi.org/10.13192/j.issn.1000-1719.2016.07.068).
- 33 Cao Y, Shen T, Huang X, et al. Astragalus polysaccharide restores autophagic flux and improves cardiomyocyte function in doxorubicin-induced cardiotoxicity[J]. Oncotarget, 2017, 8(3): 4837–4848. DOI: [10.18632/oncotarget.13596](https://doi.org/10.18632/oncotarget.13596).
- 34 朱晓雨. 黄芪多糖通过 TGF- β 1/Smads 信号通路抑制异丙肾上腺素诱导大鼠心肌纤维化 [D]. 辽宁锦州: 锦州医科大学, 2017. DOI: [10.14066/j.cnki.cn21-1349/r.2017.08.011](https://doi.org/10.14066/j.cnki.cn21-1349/r.2017.08.011).
- 收稿日期: 2025 年 03 月 17 日 修回日期: 2025 年 11 月 26 日
本文编辑: 马琳璐 钟巧妮