

秦皮乙素调节 JAK2/STAT3 信号通路对大鼠
心肌缺血再灌注损伤影响的研究Research of the effects of esculetin regulating the JAK2/STAT3 signaling pathway
on myocardial ischemia – reperfusion injury in rats田 鹏, 王宁宁¹, 苗菲菲¹,
李庆禄¹, 郑 达²(1. 衡水市人民医院 检验科, 河北 衡水 053000;
2. 衡水市人民医院 心内科, 河北 衡水 053000)TIAN Peng¹, WANG Ning – ning¹,
MIAO Fei – fei¹, LI Qing – lu¹,
ZHENG Da²(1. Department of Laboratory Medicine,
Hengshui Municipal People's Hospital,
Hengshui 053000, Hebei Province,
China; 2. Department of Cardiology,
Hengshui Municipal People's Hospital,
Hengshui 053000, Hebei Province,
China)基金项目:衡水市重点研发计划基金资助项目
(2024014032Z)作者简介:田鹏(1990 –),男,副主任检验师,
主要从事免疫学和分子生物学内容
的研究

通信作者:李庆禄,主任检验师

MP: 15503188199

E – mail: lqlyyy@126.com

摘要:目的 探究秦皮乙素调节 Janus 激酶 2(JAK2)/信号转导及转录激活因子 3(STAT3)信号通路对大鼠心肌缺血再灌注损伤的影响。方法 将 60 只大鼠随机分为对照组、模型组、低剂量(L) – 秦皮乙素(20 mg · kg⁻¹)实验组、高剂量(H) – 秦皮乙素(40 mg · kg⁻¹)实验组和 H – 秦皮乙素 + 抑制剂(40 mg · kg⁻¹ 秦皮乙素和 20 mg · kg⁻¹ JAK2/STAT3 抑制剂 WP1066)组,每组 12 只,除对照组外,其余组大鼠均进行心肌缺血再灌注造模。用红四氮唑(TTC)染色法评估梗死面积;用苏木精伊红(HE)染色法观察组织病理变化;用末端脱氧核糖核苷酸转移酶介导的 dUTP 原位切口末端标记(TUNEL)染色法观察心肌细胞凋亡;用酶联免疫实验法(ELISA)测定炎性细胞因子;用蛋白质印迹法检测大鼠心肌中 JAK2/STAT3 通路的蛋白表达。结果 模型组大鼠心肌细胞增大且排列杂乱,L – 秦皮乙素实验组、H – 秦皮乙素实验组大鼠心肌损伤减轻。对照组、模型组、L – 秦皮乙素实验组、H – 秦皮乙素实验组和 H – 秦皮乙素 + 抑制剂组大鼠心肌梗死面积分别为(3.24 ± 0.35)%、(31.36 ± 3.51)%、(20.75 ± 2.37)%、(10.48 ± 1.16)%和(29.56 ± 3.27)%;心肌细胞凋亡率分别为(6.37 ± 0.75)%、(56.24 ± 6.03)%、(38.72 ± 3.94)%、(21.46 ± 2.37)%和(51.05 ± 5.28)%;白细胞介素 – 1β(IL – 1β)的水平分别为(9.34 ± 1.02)、(158.95 ± 16.83)、(125.49 ± 13.26)、(94.83 ± 10.54)和(151.27 ± 16.42)pg · mL⁻¹;白细胞介素 – 18(IL – 18)的水平分别为(13.27 ± 1.46)、(568.93 ± 59.95)、(486.38 ± 51.32)、(312.63 ± 33.41)和(527.46 ± 56.25)pg · mL⁻¹;肿瘤坏死因子 – α(TNF – α)的水平分别为(7.85 ± 0.98)、(124.84 ± 14.64)、(88.95 ± 9.63)、(53.58 ± 5.97)和(116.32 ± 13.27)pg · mL⁻¹;五聚蛋白 3(PTX3)蛋白相对表达水平分别为 0.86 ± 0.11、0.32 ± 0.04、0.53 ± 0.07、0.71 ± 0.08 和 0.69 ± 0.08;磷酸化 JAK2(p – JAK2)蛋白相对表达水平分别为 0.81 ± 0.09、0.36 ± 0.05、0.54 ± 0.07、0.73 ± 0.08 和 0.39 ± 0.05;磷酸化 STAT3(p – STAT3)蛋白相对表达水平分别为 0.78 ± 0.09、0.29 ± 0.04、0.52 ± 0.06、0.74 ± 0.09 和 0.33 ± 0.04;对照组与模型组比较、模型组与 L – 秦皮乙素实验组比较、L – 秦皮乙素实验组与 H – 秦皮乙素实验组比较、H – 秦皮乙素实验组与 H – 秦皮乙素 + 抑制剂组比较,上述指标在统计学上差异均有统计学意义(均 P < 0.05)。结论 秦皮乙素通过激活 JAK2/STAT3 信号通路减轻心肌缺血再灌注大鼠损伤。

关键词:秦皮乙素;五聚蛋白 3;心肌缺血再灌注损伤;Janus 激酶 2;信号转导及转录激活因子 3

DOI:10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.24.009

中图分类号:R28 文献标志码:A

文章编号:1001-6821(2025)24-3506-06

Abstract: Objective To discuss the effects of esculetin on myocardial ischemia – reperfusion injury in rats by regulating the Janus kinase 2

(JAK2)/signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) signaling pathway. **Methods** A total of 60 rats were randomly divided into control group, model group, low - dose (L) - esculetin ($20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) experimental group, high - dose (H) - esculetin ($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) experimental group, and H - esculetin + inhibitor ($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ esculetin and $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ JAK2/STAT3 inhibitor WP1066) group, with 12 rats in each group. Except for the control group, rats in all other groups were subjected to myocardial ischemia - reperfusion modeling. Triphenyltetrazolium chloride (TTC) staining was used to evaluate infarct size; hematoxylin - eosin staining (HE) staining was used to observe histopathological changes; TdT - mediated dUTP Nick - End Labeling (TUNEL) staining was used to observe myocardial apoptosis; enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect inflammatory cytokines; Western blot was used to detect protein expression of JAK2/STAT3 pathway in rat myocardium. **Results** The cardiomyocytes of the rats in the model group were enlarged and arranged in a disorderly manner, while the myocardial damage of rats in the L - esculetin group and the H - esculetin experimental group was reduced. The myocardial infarction areas of the rats in the control group, model group, L - esculetin experimental group, H - esculetin experimental group and H - esculetin + inhibitor group were $(3.24 \pm 0.35)\%$, $(31.36 \pm 3.51)\%$, $(20.75 \pm 2.37)\%$, $(10.48 \pm 1.16)\%$ and $(29.56 \pm 3.27)\%$, respectively; the cardiomyocyte apoptosis rates were $(6.37 \pm 0.75)\%$, $(56.24 \pm 6.03)\%$, $(38.72 \pm 3.94)\%$, $(21.46 \pm 2.37)\%$ and $(51.05 \pm 5.28)\%$, respectively, the levels of interleukin - 1β (IL - 1β) were (9.34 ± 1.02) , (158.95 ± 16.83) , (125.49 ± 13.26) , (94.83 ± 10.54) and $(151.27 \pm 16.42) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively; the levels of interleukin - 18 (IL - 18) were (13.27 ± 1.46) , (568.93 ± 59.95) , (486.38 ± 51.32) , (312.63 ± 33.41) and $(527.46 \pm 56.25) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively; the levels of tumor necrosis factor - α (TNF - α) were (7.85 ± 0.98) , (124.84 ± 14.64) , (88.95 ± 9.63) , (53.58 ± 5.97) and $(116.32 \pm 13.27) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively; the relative expression levels of pentraxin 3 (PTX3) protein were 0.86 ± 0.11 , 0.32 ± 0.04 , 0.53 ± 0.07 , 0.71 ± 0.08 and 0.69 ± 0.08 , respectively; the relative expression levels of phospho - JAK2 (p - JAK2) protein were 0.81 ± 0.09 , 0.36 ± 0.05 , 0.54 ± 0.07 , 0.73 ± 0.08 and 0.39 ± 0.05 , respectively; the relative expression levels of phospho - STAT3 (p - STAT3) protein were 0.78 ± 0.09 , 0.29 ± 0.04 , 0.52 ± 0.06 , 0.74 ± 0.09 and 0.33 ± 0.04 , respectively. Comparing the control group with the model group, the model group with the L - phenithin experimental group, the L - phenithin group with the H - phenithin experimental group, and the H - phenithin experimental group with the H - phenithin + inhibitor group, there were statistically significant differences in the above indicators (all $P < 0.05$). **Conclusion** Esculetin alleviates myocardial ischemia - reperfusion injury in rats by activating the JAK2/STAT3 signaling pathway.

Key words: esculetin; pentraxin 3; myocardial ischemia - reperfusion injury; Janus kinase 2; signal transducer and activator of transcription 3

急性心肌梗死由冠状动脉突然闭塞引起,通常会导导致心肌坏死^[1]。尽管血运重建是挽救急性心肌梗死患者生命的方法,但随后的心肌缺血再灌注损伤是不可避免的^[2]。心肌缺血再灌注损伤是心血管疾病中的常见病症,其发生机制涉及多条复杂的代谢途径和信号通路^[3]。秦皮乙素是一种天然的二羟基香豆素,主要从花曲柳的树皮中提取,口服生物利用度较低,具有广泛的药理活性,包括心血管保护活性等^[4]。秦皮乙素可以通过参与细胞抗氧化反应和减少炎症相关发病机制来改善动脉粥样硬化^[5];通过抗氧化和心肌膜稳定对异丙肾上腺素诱导的心肌梗死具有心脏保护潜力,以及体外保护 H9C2 细胞免受砷诱导的坏死或凋亡^[6]。Janus 激酶 2 (Janus kinase 2, JAK2)/

信号转导及转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 通路提供心脏保护,防止心肌缺血/再灌注损伤^[7]。有研究报道维拉帕米即通过激活 JAK2/STAT3 信号通路抑制细胞凋亡,从而减轻心肌缺血/再灌注损伤^[8]。因此,本研究旨在探究秦皮乙素对心肌缺血再灌注大鼠损伤的影响及 JAK2/STAT3 信号通路在其中的作用。

材料与方法

1 材料

动物 成年雄性 SD 大鼠, 体重 $(220 \pm 20 \text{ g})$, 购于苏州工业园区爱尔麦特科技有限公司, 动物生产许可证号: SCXK(自苏)2024 - 0001, 动物使用许可证

号:SYXK(自苏)2023-0005。饲养环境维持在 $20\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$,湿度 $40\%\sim 50\%$,并采用标准的明暗循环。本研究经衡水市人民医院医学伦理委员会批准,伦理批号:2024245。

试剂 秦皮乙素,规格:100 mg,纯度:99.79%,批号:HY-N0284,美国 MedChemexpress 生物科技公司生产;WP1066,规格:50 mg,纯度:99.77%,批号:HY-15312,美国 MedChemexpress 生物科技公司生产;末端脱氧核苷酸转移酶介导的 dUTP 原位切口末端标记(TdT-mediated dUTP Nick-End Labeling, TUNEL)染色试剂盒,武汉尚恩生物技术有限公司生产;红四氮唑(triphenyltetrazolium chloride, TTC),翌圣生物科技(上海)股份有限公司生产;苏木素伊红(hematoxylin-eosin staining, HE)染色试剂盒,大连美仑生物技术有限公司生产;大鼠白细胞介素- 1β (interleukins- 1β , IL- 1β)酶联免疫吸附测定(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒,江苏酶免实业有限公司生产;大鼠 IL-18、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)ELISA 试剂盒,上海碧云天生物技术有限公司生产;五聚蛋白 3(pentraxin 3, PTX3)抗体、JAK2 抗体、STAT3 抗体、磷酸化 STAT3(phospho-STAT3, p-STAT3)抗体、GAPDH 抗体、辣根过氧化物酶羊抗大鼠免疫球蛋白 G 二抗、辣根过氧化物酶羊抗兔免疫球蛋白 G 二抗,均由美国 Abcam 公司生产; p-JAK2 抗体,美国 Cell Signaling Technology 公司生产。

仪器 N-STORM 显微镜,日本尼康公司产品;Firreader V10 凝胶成像仪,无锡莱弗思生物实验器材有限公司产品;SE400 垂直电泳系统和 TE62 转印系统,美国 Amersham 公司产品;DR-200B 多功能微孔板酶标仪,深圳市德科科技有限公司产品。

2 方法

2.1 心肌缺血再灌注大鼠造模^[9]

60 只大鼠随机选择 12 只为对照组,其余 48 只均进行心肌缺血再灌注造模,1%戊巴比妥钠($60\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)腹腔注射麻醉后,进行气管插管与机械通气。用三导联心电图监测心电图变化。用活结结扎左前降支冠状动脉,持续 30 min 后诱导心肌缺血,随后再灌注 4 h。对照组执行相同手术流程,但不结扎。结扎后左心室心尖及前壁呈现白色为造模缺血成功,再灌注成功后则呈充血性发红,大鼠均造模成功。

2.2 大鼠分组饲养

造模成功后,将大鼠随机分为 4 组:模型组、低剂量(L)-秦皮乙素实验组、高剂量(H)-秦皮乙素实验组和 H-秦皮乙素+抑制剂组,每组 12 只。L-秦皮乙素

实验组、H-秦皮乙素实验组大鼠分别腹腔注射 $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 秦皮乙素(溶于 4%二甲亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO))^[10];H-秦皮乙素+抑制剂组大鼠腹腔注射 $40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 秦皮乙素,同时灌胃 $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ JAK2/STAT3 抑制剂 WP1066(溶于 4% DMSO)^[11],其余组大鼠灌胃和注射等量 DMSO,给药 7 d 后,安乐死大鼠,保存心脏和血液以进行后续实验。

2.3 TTC 染色法评估梗死面积^[9]

将冷冻的心脏组织切片,并在 2% TTC 溶液中于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min。再将切片在 4% 多聚甲醛溶液中固定 24 h,随后借助图像处理软件测量切片的白色(梗死组织)和红色(非梗死组织)部分面积。心肌梗死面积(%)=(梗死面积/全心脏面积) $\times 100\%$ 。

2.4 HE 染色法观察组织病理变化^[9]

心脏标本用 10% 多聚甲醛固定,包埋在石蜡中并切成 $5\text{ }\mu\text{m}$ 的薄片,将其脱蜡复水后,进行 HE 染色并在光学显微镜下观察,HE 染色步骤按照试剂盒说明进行。

2.5 TUNEL 染色法观察心肌细胞凋亡

石蜡切片脱蜡水化,用磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)(pH: 7.35)洗涤 3 次,滴加 $1\times$ 蛋白酶 K 工作液 $100\text{ }\mu\text{L}$, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 反应 20 min,根据试剂盒的步骤进行操作,加入标记工作液在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下避光孵育 1 h,并用 $4'$,6-二脒基-2-苯基吲哚($4'$,6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)对细胞核进行染色,在室温下孵育 5 min,然后用 PBS 冲洗 2 次。在荧光显微镜下观察和拍摄心肌组织,心肌细胞凋亡率为凋亡心肌细胞数量和心肌细胞总数的百分比。

2.6 ELISA 法测定炎性细胞因子

于各组大鼠处死前收集齐尾静脉血,用 ELISA 试剂盒检测血清中炎性细胞因子 IL- 1β 、IL-18 和 TNF- α 的浓度,具体操作步骤严格按照试剂盒的说明进行,由酶标仪采集数据。

2.7 Western blot 法检测大鼠心肌中 JAK2/STAT3 通路的蛋白表达

通过 RIPA 裂解液裂解心肌组织,2,2-联喹啉-4,4-二甲酸二钠法测定上清液总蛋白浓度。蛋白质通过 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离后,转移到聚偏氟乙烯膜,在室温下用含有 5% 脱脂牛奶的 TBST 缓冲液封闭 1 h,并与 PTX3(1:1 000)、p-JAK2(1:1 000)、p-STAT3(1:1 000)、JAK2(1:5 000)、STAT3(1:1 000)、GAPDH(1:10 000)一抗于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,室温下与二抗孵育 1 h。使用增强型化学发光试剂检测蛋白,用 Image J 软件测量蛋白质条带强度。

3 统计学处理

用 SPSS 25.0 软件进行统计分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。符合正态分布和方差齐性检验的多组间数据比较用单因素方差分析,两组间比较用 Tukey 检验。

结 果

1 心肌组织 TTC 染色

与对照组相比,模型组大鼠心肌梗死面积显著增加($P < 0.05$);与模型组相比,L-秦皮乙素实验组大鼠心肌梗死面积显著减少($P < 0.05$);与 L-秦皮乙素实验组相比,H-秦皮乙素实验组大鼠心肌梗死面积显著减少($P < 0.05$);与 H-秦皮乙素实验组相比,H-秦皮乙素 + 抑制剂组大鼠心肌梗死面积显著升高($P < 0.05$),见表 1。

2 各组大鼠心肌组织 HE 染色

对照组大鼠心肌组织结构清晰,心肌细胞排列正常,无心肌细胞坏死,无炎性细胞浸润和纤维增生;模型组大鼠心肌组织大量细胞水肿,心肌细胞增大且排列杂乱;与模型组比较,L-秦皮乙素实验组和 H-秦皮乙素实验组大鼠心肌组织结构清晰,心肌损伤减轻,且 H-秦皮乙素组优于 L-秦皮乙素实验组;与 H-秦皮乙素实验组比较,H-秦皮乙素 + 抑制剂组大鼠心肌损伤加重,见图 1。

3 各组大鼠心肌细胞凋亡比较

对照组、模型组、L-秦皮乙素实验组、H-秦皮乙素实验组和 H-秦皮乙素 + 抑制剂组大鼠心肌细胞凋亡率分别为 $(6.37 \pm 0.75)\%$ 、 $(56.24 \pm 6.03)\%$ 、 $(38.72 \pm 3.94)\%$ 、 $(21.46 \pm 2.37)\%$ 和 $(51.05 \pm 5.28)\%$;模型组与对照组比较,L-秦皮乙素实验组和 H-秦皮乙素实验组与模型组比较,H-秦皮乙素实验组与 L-秦皮乙素实验组比较,H-秦皮乙素 + 抑制剂组与 H-秦皮乙素组比较,上述指标在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

4 血清中炎性细胞因子 IL-1 β 、IL-18 和 TNF- α 的表达

模型组血清中炎性细胞因子表达水平均显著

高于对照组(均 $P < 0.05$);L-秦皮乙素实验组和 H-秦皮乙素实验组血清中炎性细胞因子表达水平均显著低于模型组(均 $P < 0.05$),H-秦皮乙素实验组炎性细胞因子表达水平均显著低于 L-秦皮乙素实验组(均 $P < 0.05$);与 H-秦皮乙素实验组比较,H-秦皮乙素 + 抑制剂组大鼠血清中 IL-1 β 、IL-18 和 TNF- α 的表达水平均显著提高(均 $P < 0.05$),见表 2。

5 各组大鼠心肌中 PTX3 及 JAK2/STAT3 通路蛋白表达

模型组大鼠心肌中 PTX3、p-JAK2 和 p-STAT3 蛋白相对表达水平均显著低于对照组(均 $P < 0.05$);与模型组比较,L-秦皮乙素实验组和 H-秦皮乙素实验组大鼠心肌中 PTX3、p-JAK2 和 p-STAT3 蛋白相对表达水平均显著提高($P < 0.05$),H-秦皮乙素实验组均显著高于 L-秦皮乙素实验组(均 $P < 0.05$);与 H-秦皮乙素实验组比较,H-秦皮乙素 + 抑制剂组大鼠心肌中 p-JAK2 和 p-STAT3 蛋白相对表达水平均显著降低(均 $P < 0.05$),见表 3 和图 2。

表 1 各组大鼠心肌梗死面积比较($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Comparison of myocardial infarction area in rats of each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Myocardial infarction area(%)
Control	6	3.24 $\pm$ 0.35
Model	6	31.36 $\pm$ 3.51 [*]
L-esculetin	6	20.75 $\pm$ 2.37 [#]
H-esculetin	6	10.48 $\pm$ 1.16 ^{&}
H-esculetin + inhibitor	6	29.56 $\pm$ 3.27 [@]

Control group: No special treatment; Model group: Myocardial ischemia-reperfusion modeling; L-esculetin group: Modeling and 20 mg · kg⁻¹ esculetin; H-esculetin group: Modeling and 40 mg · kg⁻¹ esculetin; H-esculetin + inhibitor group: Modeling, 40 mg · kg⁻¹ esculetin and 20 mg · kg⁻¹ WP1066. Compared with control group, ^{*} $P < 0.05$; Compared with model group, [#] $P < 0.05$; Compared with L-esculetin group, [&] $P < 0.05$; Compared with H-esculetin group, [@] $P < 0.05$.

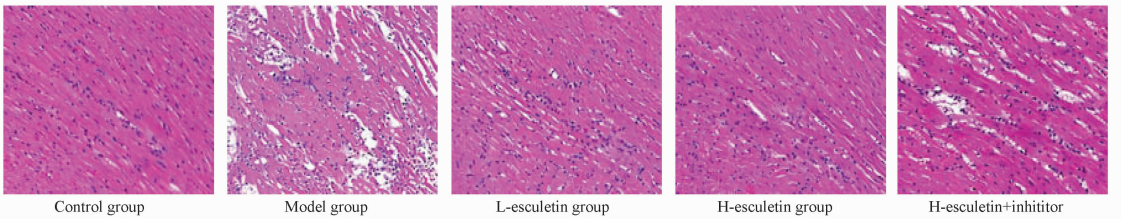


图 1 苏木精-伊红(HE)染色法检测大鼠心肌组织($\times 200$)
Figure 1 Hematoxylin-eosin (HE) staining of rat myocardial tissue ($\times 200$)

表2 各组大鼠血清中白细胞介素(IL)-1 β 、IL-18 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of the levels of interleukins (IL)-1 β , IL-18 and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in the serum of rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	IL-1 β (pg $\cdot$ mL $^{-1}$)	IL-18 (pg $\cdot$ mL $^{-1}$)	TNF- α (pg $\cdot$ mL $^{-1}$)
Control	9.34 $\pm$ 1.02	13.27 $\pm$ 1.46	7.85 $\pm$ 0.98
Model	158.95 $\pm$ 16.83 *	568.93 $\pm$ 59.95 *	124.84 $\pm$ 14.64 *
L-esculetin	125.49 $\pm$ 13.26 #	486.38 $\pm$ 51.32 #	88.95 $\pm$ 9.63 #
H-esculetin	94.83 $\pm$ 10.54 &	312.63 $\pm$ 33.41 &	53.58 $\pm$ 5.97 &
H-esculetin + inhibitor	151.27 $\pm$ 16.42 @	527.46 $\pm$ 56.25 @	116.32 $\pm$ 13.27 @

Dose and *n* refer to table 1. Compared with control group, * *P* < 0.05; Compared with model group, # *P* < 0.05; Compared with L-esculetin group, & *P* < 0.05; Compared with H-esculetin group, @ *P* < 0.05.

表3 各组大鼠心肌中五聚蛋白3(PTX3)、磷酸化 Janus 激酶2(p-JAK2)和磷酸化信号转导及转录激活因子3(p-STAT3)蛋白相对表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of relative expression levels of pentraxin 3 (PTX3), phospho-Janus kinase 2 (p-JAK2) and phospho-signal transducer and activator of transcription 3 (p-STAT3) in myocardium of rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	PTX3	p-JAK2/JAK2	p-STAT3/STAT3
Control	0.86 $\pm$ 0.11	0.81 $\pm$ 0.09	0.78 $\pm$ 0.09
Model	0.32 $\pm$ 0.04 *	0.36 $\pm$ 0.05 *	0.29 $\pm$ 0.04 *
L-esculetin	0.53 $\pm$ 0.07 #	0.54 $\pm$ 0.07 #	0.52 $\pm$ 0.06 #
H-esculetin	0.71 $\pm$ 0.08 &	0.73 $\pm$ 0.08 &	0.74 $\pm$ 0.09 &
H-esculetin + inhibitor	0.69 $\pm$ 0.08	0.39 $\pm$ 0.05 @	0.33 $\pm$ 0.04 @

Dose and *n* refer to Table 1. Compared with control group, * *P* < 0.05; Compared with model group, # *P* < 0.05; Compared with L-esculetin group, & *P* < 0.05; Compared with H-esculetin group, @ *P* < 0.05.

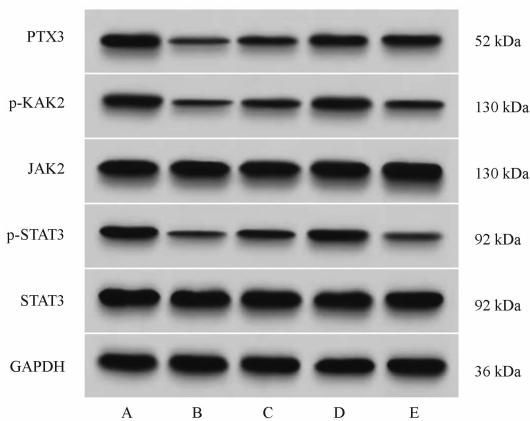


图2 蛋白质印迹检测 PTX3 及 JAK2/STAT3 通路相关蛋白相对表达水平

Figure 2 The relative expression levels of PTX3 and JAK2/STAT3 pathway-related proteins detected by Western blot

A: Control group; B: Model group; C: L-esculetin group; D: H-esculetin group; E: H-esculetin + inhibitor group.

讨论

心肌缺血再灌注损伤是急性心肌梗死不可避免的危险事件^[12]。缺血性心脏病是全世界最大的健康负担和最常见的死亡原因,心肌缺血/再灌注是缺血性心脏病的病理生理学基础,缺血性心脏病预防和治疗

的改进降低了发达国家的死亡率,但仍然需要更好的病理生理学理解,以解决急性心肌梗死引发的重大问题^[13]。秦皮乙素属于苯并吡喃类香豆素化合物,具有巨大的抗氧化潜力,从而缓解关节炎、糖尿病、恶性肿瘤和肝疾病等。在结构上,秦皮乙素包含2个羟基,通过在病理条件下抑制氧化应激来增强其作为抗氧化剂的功能^[14]。研究表明,线粒体靶向秦皮乙素给药可改善 db/db 小鼠的胰岛素抵抗和高血糖诱导的动脉粥样硬化^[15];线粒体靶向秦皮乙素通过延缓血管衰老和促炎过程以及改善线粒体生物发生和功能来缓解衰老情况下的动脉粥样硬化^[16]。在研究中,与对照组比较,心肌缺血再灌注大鼠心肌梗死面积增加,组织水肿,细胞增大,细胞凋亡率及血清中炎症因子水平升高;而秦皮乙素处理减轻大鼠心肌缺血再灌注损伤症状、降低炎症因子水平,且高剂量秦皮乙素的效果优于低剂量;提示秦皮乙素对大鼠心肌缺血再灌注损伤的改善作用。

JAK2 的激活诱导 STAT 磷酸化,而 STAT 磷酸化又与特定 DNA 元件结合并促进抗氧化和抗炎基因的转录,JAK2/STAT3 通路的活性在心肌缺血/再灌注损伤中显著降低,激活 JAK2/STAT3 信号通路在改善心肌缺血/再灌注损伤患者临床预后中具有重要作用^[17]。已有研究表明,JLX001 通过激活 JAK2/STAT3 通路改善心肌缺血再灌注损伤^[18];L-茶氨酸通过调控 JAK2/STAT3 信号通路的活化,同时抑制氧化应激及细胞凋亡进程,从而有效减轻心肌缺血/再灌注损伤^[19];葫芦素 B 通过激活 JAK2/STAT3 信号通路防止心肌缺血再灌注损伤^[20];马钱苷通过激活 JAK2/STAT3 信号传导调节氧化应激和细胞凋亡,防止心肌缺血再灌注损伤^[21]。因此,本研究检测 JAK2/STAT3 通路蛋白表达及其上游 PTX3 蛋白表达,结果显示,心肌缺血再灌注大鼠心肌中 PTX3、p-JAK2 和 p-STAT3 的蛋白表达降低,而秦皮乙素可促进 PTX3、p-JAK2 和 p-STAT3 的蛋白表达,且高剂量效果大于低剂量;另外,在 H-秦皮乙素 + 抑制剂组中,JAK2 抑制剂 WP1066 的加入不仅抑制 p-JAK2

和 p - STAT3 的蛋白表达,还导致心肌缺血再灌注大鼠损伤加重;提示秦皮乙素可能通过激活 JAK2/STAT3 信号通路减轻心肌缺血再灌注大鼠损伤。

综上所述,秦皮乙素通过激活 JAK2/STAT3 信号通路减轻心肌缺血再灌注大鼠损伤。本研究为秦皮乙素治疗心肌缺血再灌注损伤提供依据,有助于急性心肌梗死药物的开发。但本研究未对通路的调控机制进行深入探究,后续研究可明确秦皮乙素的直接作用靶点。本研究仅采用单一动物模型,未进行临床相关性分析,无法为秦皮乙素的临床剂量选择、适用人群筛选提供依据,临床转化的衔接不足,后续研究可结合临床样本分析,进一步提升研究结论的科学性与临床转化价值。

参考文献:

- [1] ALGOET M, JANSSENS S, HIMMELREICH U, *et al.* Myocardial ischemia - reperfusion injury and the influence of inflammation [J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2023, 33 (6) : 357—366.
- [2] CHEN M, ZHONG G, LIU M, *et al.* Integrating network analysis and experimental validation to reveal the mitophagy - associated mechanism of Yiqi Huoxue (YQHX) prescription in the treatment of myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. *Pharmacol Res*, 2023, 189 (1) : 106682.
- [3] TIAN H, ZHAO X, ZHANG Y, *et al.* Abnormalities of glucose and lipid metabolism in myocardial ischemia - reperfusion injury [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 163 (1) : 114827.
- [4] ZHANG L, XIE Q, LI X. Esculetin: A review of its pharmacology and pharmacokinetics [J]. *Phytother Res*, 2022, 36 (1) : 279—298.
- [5] WANG Q H, QIN S W, JIANG J G. Improvement effects of esculetin on the formation and development of atherosclerosis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 150 (1) : 113001.
- [6] PULLAIAH C P, NELSON V K, RAYAPU S, *et al.* Exploring cardioprotective potential of esculetin against isoproterenol induced myocardial toxicity in rats: *In vivo* and *in vitro* evidence [J]. *BMC Pharmacol Toxicol*, 2021, 22 (1) : 43.
- [7] MAHDIANI S, OMIDKHODA N, REZAEI R, *et al.* Induction of JAK2/STAT3 pathway contributes to protective effects of different therapeutics against myocardial ischemia/reperfusion [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 155 (1) : 113751.
- [8] ZHAO Y, HUANG W, LIU F, *et al.* Verapamil attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury by inhibiting apoptosis via activating the JAK2/STAT3 signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 180 (1) : 117568.
- [9] XU S, WU B, ZHONG B, *et al.* Naringenin alleviates myocardial ischemia/reperfusion injury by regulating the nuclear factor - erythroid factor 2 - related factor 2 (Nrf2) /System xc - /glutathione peroxidase 4 (GPX4) axis to inhibit ferroptosis [J]. *Bioengineered*, 2021, 12 (2) : 10924—10934.
- [10] ZHANG Z, ZHANG J, SHI R, *et al.* Esculetin attenuates cerebral ischemia - reperfusion injury and protects neurons through Nrf2 activation in rats [J/OL]. *Braz J Med Biol Res*, 2024, 57 (1) : e13914. 2024 - 11 - 04 [2025 - 08 - 08]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39504067/>.
- [11] LIU W, LIU A, YU S, *et al.* STAT3 induces amygdala apoptosis by regulating the expression of stathmin in the rat model of posttraumatic stress disorder [J]. *Folia Neuropathol*, 2025, 63 (1) : 87—99.
- [12] ZHAO W K, ZHOU Y, XU T T, *et al.* Ferroptosis: Opportunities and challenges in myocardial ischemia - reperfusion injury [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 21 (1) : 9929687.
- [13] HEUSCH G. Myocardial ischemia/reperfusion: Translational pathophysiology of ischemic heart disease [J]. *Med*, 2024, 5 (1) : 10—31.
- [14] GARG S S, GUPTA J, SAHU D, *et al.* Pharmacological and therapeutic applications of esculetin [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 (20) : 12643.
- [15] SINGURU G, PULIPAKA S, SHAIKH A, *et al.* Mitochondria targeted esculetin administration improves insulin resistance and hyperglycemia - induced atherosclerosis in db/db mice [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2024, 102 (7) : 927—945.
- [16] KARNEWAR S, PULIPAKA S, KATTA S, *et al.* Mitochondria - targeted esculetin mitigates atherosclerosis in the setting of aging via the modulation of SIRT1 - mediated vascular cell senescence and mitochondrial function in Apoe^{-/-} mice [J]. *Atherosclerosis*, 2022, 356 (1) : 28—40.
- [17] LI S, WANG H, ZHOU Y. JAK2/STAT3 pathway mediates beneficial effects of pterostilbene on cardiac contractile and electrical function in the setting of myocardial reperfusion injury [J]. *Physiol Res*, 2022, 71 (4) : 489—499.
- [18] YIN Q, ZHAO B, ZHU J, *et al.* JILX001 improves myocardial ischemia - reperfusion injury by activating Jak2 - Stat3 pathway [J]. *Life Sci*, 2020, 257 (1) : 118083.
- [19] LI Q, DING J, XIA B, *et al.* L - theanine alleviates myocardial ischemia/reperfusion injury by suppressing oxidative stress and apoptosis through activation of the JAK2/STAT3 pathway in mice [J]. *Mol Med*, 2024, 30 (1) : 98.
- [20] CHEN C, CHEN Y, XU M, *et al.* Cucurbitacin B protects against myocardial ischemia - reperfusion injury through activating JAK2/STAT3 signaling pathway [J]. *Cell Mol Biol (Noisy - le - grand)*, 2023, 69 (11) : 155—161.
- [21] XIA B, DING J, LI Q, *et al.* Loganin protects against myocardial ischemia - reperfusion injury by modulating oxidative stress and cellular apoptosis via activation of JAK2/STAT3 signaling [J]. *Int J Cardiol*, 2024, 395 (1) : 131426.

(收稿日期 2025 - 08 - 08)