

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research积雪草酸抑制 TLR4/Myd88/NF- κ B 通路保护
同型半胱氨酸损伤心微血管内皮细胞的研究Research of asiatic acid inhibiting the TLR4/Myd88/NF- κ B pathway and
protecting cardiac microvascular endothelial cells damaged by homocysteine刘振华¹, 王彦新¹, 李洪禹¹,
田 玮¹, 张馨彤¹, 王新宇²,
韦 倩¹(1. 长春中医药大学 附属第三临床医院, 吉林
长春 130117; 2. 吉林省药品检验研究院, 吉林
长春 130299)LIU Zhen-hua¹, WANG Yan-xin¹,
LI Hong-yu¹, TIAN Wei¹,
ZHANG Xin-tong¹,
WANG Xin-yu², WEI Qian¹(1. The Third Affiliated Clinical Hospital
of Changchun University of Chinese
Medicine, Changchun 130117, Jilin
Province, China; 2. Jilin Institute of
Drug Inspection, Changchun 130299,
Jilin Province, China)作者简介: 刘振华(1985-), 男, 副主任医师, 从
事心血管疾病诊断与治疗方向的临
床工作和研究

通信作者: 韦倩, 主任医师, 硕士生导师

Tel: (0431) 89912500

E-mail: weiqian1981@163.com

摘要:目的 评估积雪草酸(AA)通过调控 Toll 样受体 4/髓样分化因子 88/核因子 κ B/ NOD 样受体蛋白 3(TLR4/MyD88/NF- κ B/NLRP3)通路对心微血管内皮细胞(CMECs)凋亡和血管再生的影响。方法 用同型半胱氨酸(HCY)诱导大鼠 CMECs 模拟构建冠心病损伤细胞模型,用细胞计数试剂盒(CCK8)法验证模型构建是否成功。将细胞分为对照组(正常培养)、模型组(造模)、积雪草酸组(造模+10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ AA)和联合组(造模+1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 脂多糖+10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ AA)。用 CCK8 法检测细胞活力,用流式细胞术法检测细胞凋亡,用蛋白质印迹法检测凋亡相关蛋白、通路相关蛋白和血管再生相关蛋白的相对表达水平。结果 对照组、模型组、积雪草酸组和联合组的细胞活性分别为 0.92 ± 0.01 、 0.61 ± 0.01 、 0.75 ± 0.01 和 0.50 ± 0.02 ;细胞凋亡率分别为 $(4.96 \pm 0.53)\%$ 、 $(24.98 \pm 1.68)\%$ 、 $(18.22 \pm 0.96)\%$ 和 $(34.17 \pm 0.49)\%$;B 细胞淋巴瘤/白血病-2 相关 X 蛋白(Bax)的相对蛋白表达水平分别为 0.12 ± 0.01 、 0.63 ± 0.01 、 0.42 ± 0.02 和 0.96 ± 0.01 ;Bcl-2 蛋白相对表达水平分别为 0.99 ± 0.02 、 0.34 ± 0.01 、 0.69 ± 0.01 和 0.10 ± 0.01 ;TLR4 蛋白相对表达水平分别为 0.19 ± 0.01 、 0.65 ± 0.01 、 0.41 ± 0.01 和 0.84 ± 0.01 ;Myd88 蛋白相对表达水平分别为 0.29 ± 0.02 、 0.77 ± 0.01 、 0.61 ± 0.01 和 0.95 ± 0.02 ;NF- κ B 蛋白相对表达水平分别为 0.22 ± 0.01 、 0.82 ± 0.02 、 0.53 ± 0.02 和 0.84 ± 0.02 ;NLRP3 蛋白相对表达水平分别为 0.17 ± 0.02 、 0.75 ± 0.03 、 0.50 ± 0.01 和 0.98 ± 0.01 ;血管内皮生长因子(VEGF)蛋白相对表达水平分别为 0.95 ± 0.01 、 0.44 ± 0.02 、 0.68 ± 0.02 和 0.23 ± 0.01 ;血小板-内皮细胞黏附分子(CD31)蛋白相对表达水平分别为 1.01 ± 0.01 、 0.44 ± 0.02 、 0.58 ± 0.01 和 0.38 ± 0.01 。模型组的上述指标与对照组比较,积雪草酸组的上述指标与模型组比较,联合用药组的上述指标与积雪草酸组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。结论 AA 能通过抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路缓解 HCY 诱导的心微血管内皮细胞凋亡,促进血管再生。

关键词:积雪草酸;冠心病;Toll 样受体 4/髓样分化因子 88/核因子 κ B/ NOD 样受体蛋白 3;凋亡;血管生成

DOI:10.13699/j.cnki.1001-6821.2026.01.006

中图分类号:R285.5

文献标志码:A

文章编号:1001-6821(2026)01-0034-06

Abstract: Objective To evaluate the effects of centella asiatica acid (AA) on the apoptosis of cardiac microvascular endothelial cells (CMECs) and vascular regeneration by modulating the Toll-like receptor 4/myeloid differentiation primary response 88/nuclear factor kappa B/nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3 (TLR4/MyD88/NF- κ B/NLRP3) pathway. **Methods** The

homocysteine (HCY) – induced rat CMECs were used to simulate and construct a coronary heart disease injury cell model, and the success of model construction was verified using the cell counting kit – 8 (CCK8) method. The cells were divided into control group (normal culture), model group (modeling), centella asiatica acid group (modeling + $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ AA) and combined group (modeling + $1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ lipopolysaccharide + $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ AA). Cell viability was detected using CCK8, apoptosis was assessed by flow cytometry, and the relative expression levels of apoptosis – related proteins, pathway – related proteins and vascular regeneration – related proteins were measured by Western blot. **Results** The cell viability of control group, model group, asiatica acid group and combination group were 0.92 ± 0.01 , 0.61 ± 0 , 0.75 ± 0.01 and 0.50 ± 0.02 , respectively; the apoptosis rates were $(4.96 \pm 0.53)\%$, $(24.98 \pm 1.68)\%$, $(18.22 \pm 0.96)\%$ and $(34.17 \pm 0.49)\%$, respectively; the relative protein expression levels of B – cell lymphoma/leukemia 2 – associated X protein (Bax) were 0.12 ± 0.01 , 0.63 ± 0 , 0.42 ± 0.02 and 0.96 ± 0.01 , respectively; the relative expression levels of Bcl – 2 protein were 0.99 ± 0.02 , 0.34 ± 0.01 , 0.69 ± 0.01 and 0.10 ± 0.01 , respectively; the relative expression levels of TLR4 protein were 0.19 ± 0.01 , 0.65 ± 0 , 0.41 ± 0.01 and 0.84 ± 0.01 , respectively; the relative expression levels of Myd88 protein were 0.29 ± 0.02 , 0.77 ± 0 , 0.61 ± 0.01 and 0.95 ± 0.02 , respectively; the relative expression levels of NF – κ B protein were 0.22 ± 0.01 , 0.82 ± 0.02 , 0.53 ± 0.02 and 0.84 ± 0.02 , respectively; the relative expression levels of NLRP3 protein were 0.17 ± 0.02 , 0.75 ± 0.03 , 0.50 ± 0.01 and 0.98 ± 0.01 , respectively; the relative expression levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) protein were 0.95 ± 0.01 , 0.44 ± 0.02 , 0.68 ± 0.02 and 0.23 ± 0.01 , respectively; the relative expression levels of platelet endothelial cell adhesion molecule – 1 (CD31) protein were 1.01 ± 0.01 , 0.44 ± 0.02 , 0.58 ± 0 and 0.38 ± 0.01 , respectively. The above indicators of model group were compared with control group, the above indicators of the oxalic acid group were compared with the model group, and the above indicators of the combination therapy group were compared with the asiatica acid group, the differences were all statistically significant (all $P < 0.01$). **Conclusion** AA can alleviate HCY induced apoptosis of cardiac microvascular endothelial cells and promote vascular regeneration by inhibiting TLR4/MyD88/NF – κ B pathway.

Key words: asiatic acid; coronary heart disease; Toll – like receptor 4/myeloid differentiation primary response 88/nuclear factor kappa B/nucleotide – binding oligomerization domain – like receptor protein 3 pathway; apoptosis; angiogenesis

冠心病是最常见的一类器官疾病,目前,冠心病死亡人数已超过所有肿瘤死亡人数的总和,是人类第1大死因^[1]。临床上许多冠心病患者在早期往往没有明显的症状,预防冠心病的发生和进一步发展已成为亟待解决的医学问题之一。血管紧张素转换酶抑制剂、 β 受体阻滞剂、他汀类药物、阿司匹林等药物常引起药物不良反应^[2],而中药方剂具有多靶点干预和药物不良反应小的优势。积雪草酸(asiatic acid, AA)是多种中药复方中的主要活性成分之一,已证实对缺氧/复氧所致心肌细胞损伤具有保护作用^[3-4]。据报道,AA可以通过调控Toll样受体4/髓样分化因子88/核因子 κ B(Toll – like receptor 4/myeloid differentiation primary response 88/nuclear factor kappa B, TLR4/MyD88/NF – κ B) p65通路抑制疾病进展,保护心功能^[5-6]。但AA对同型半胱氨酸(homocysteine, HCY)诱导模拟构建的冠心病损伤细胞模型的作用效

果和机制尚未阐明。基于此,本研究探究了积雪草酸能否通过调控TLR4/MyD88/NF – κ B通路缓解HCY诱导的冠心病细胞损伤,以期对冠心病的中药药物治疗提供更多的实验依据。

材料与方法

1 材料

细胞 大鼠心微血管内皮细胞(cardiac microvascular endothelial cells, CMECs),购自湖北武汉普诺赛生命科技有限公司。

试剂 L – 半胱氨酸,规格:每瓶100 g,纯度: $\geq 99\%$,批号:C108237、积雪草酸,规格:每瓶50 mg,纯度: $\geq 98\%$,批号:A111379,均由上海阿拉丁生化科技股份有限公司生产;大鼠心微血管内皮细胞完全培养基,武汉普诺赛生命科技有限公司生产;0.25%胰

蛋白酶和放射免疫沉淀分析(radioimmunoprecipitation assay, RIPA)裂解液,北京索莱宝科技有限公司生产; Annexin V - FITC/PI 凋亡检测试剂盒,美国 Becton Dickinson 公司生产;聚偏氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)转移膜,德国 Millipore Corporation 生产;化学发光试剂,江苏省天地人和生物科技有限公司生产;BCA 蛋白浓度测定试剂盒,上海碧云天生物技术有限公司生产;细胞技术试剂盒-8(cell counting kit-8, CCK-8)试剂盒、抗体 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 基因相关 X 蛋白(B-cell lymphoma/leukemia-2-associated X protein, Bax)、Bcl-2、Toll 样受体(toll like receptor 4, TLR4)、髓性分化原发应答基因 88(myeloid differentiation primary response gene 88, MyD88)、核因子 κ B 亚基 p65(nuclear factor- κ B p65, NF- κ B p65)、NOD 样受体热蛋白结构域蛋白 3(NLR family pyrin domain containing 3, NLRP3)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、血小板-内皮细胞黏附分子(platelet endothelial cell adhesion molecule-1, CD31)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)及羊抗兔免疫球蛋白 G(immunoglobulin G, IgG),均由湖北武汉贝茵莱生物技术有限公司生产。

仪器 DMIL LED 倒置荧光显微镜,德国 Leica 相机股份公司产品;AMR-100 酶标仪,浙江杭州奥盛公司全称产品;NovoCyte 流式细胞仪,德国艾森生物有限公司产品;Tanon-5200 全自动化学发光分析仪,上海天能科技有限公司产品;mini protean 3 cell 电泳仪,美国 Bio-Rad Laboratories 产品。

2 实验方法

2.1 细胞培养及心损伤细胞模型构建^[7]

CMECs 在大鼠心微血管内皮细胞完全培养基中培养,培养箱温度 37℃,5% CO₂。进行传代培养,加入 0.25% 的胰蛋白酶消化,细胞收回突起变圆时倒掉胰酶,分散细胞,重新加入完全培养基。基于培养状态较好的 CMECs 细胞,用 0.25 mmol·L⁻¹ 的 HCY 诱导 24 h,模拟构建心损伤细胞模型,以未处理的细胞为对照,通过 CCK8 法检测细胞活性。

2.2 细胞分组和处理方法^[8-9]

将 CMECs 细胞分为对照组、模型组、积雪草酸组和联合用药组,其中对照组为正常培养的 CMECs 细胞;模型组用 0.25 mmol·L⁻¹ HCY 诱导 CMECs 细胞 24 h;积雪草酸组在造模后用 10 μmol·L⁻¹ AA 干预 24 h;联合用药组造模后同时用 1 μg·mL⁻¹

脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)和 10 μmol·L⁻¹ AA 干预 24 h。

2.3 CCK8 试剂盒法检测细胞活性

将 CMECs 细胞接种于 96 孔板(每孔 3 × 10³ 个细胞),培养 24 h 以确保细胞粘附,按照分组处理结束后,向每孔加入 CCK8 溶液 10 μL,继续培养 4 h。用酶联免疫检测仪在 450 nm 处测量各孔的光密度,根据吸光值判断各孔细胞增殖活力。

2.4 流式细胞术法检测细胞凋亡^[10]

各组细胞(每孔 1 × 10⁶) 在 6 孔板中培养,细胞贴壁后,抽吸培养基,离心丢弃上清。用 PBS 洗涤沉淀物 2 次,重悬,并与 Annexin V - FITC 10 μL 和碘化丙啶 4℃避光孵育 30 min,用流式细胞仪分析细胞凋亡情况。

2.5 蛋白质印迹法检测相关因子的蛋白表达

每 1 × 10⁶ 个细胞加入 RIPA 缓冲液裂解 200 μL,离心后取上清液,用 BCA 试剂盒测定样品总蛋白表达。蛋白样品(20 μg)通过 SDS-PAGE 凝胶电泳分离,转移到聚偏氟乙烯膜上,通过 5% 的脱脂奶粉室温封闭过夜。然后加入 1:1 000 稀释的 Bax、Bcl-2、TLR4、Myd88、NF- κ B、NLRP3、VEGF 和 CD31 的抗体,在 4℃下孵育 1 h。PBST 洗涤后,二抗(1:2.0 × 10⁴)室温孵育 1 h。用化学发光试剂处理 2 min,并暴露于全自动化学发光分析仪中。

3 统计学处理

数据来自至少 3 个独立的实验,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS 22.0 软件进行 2 组间配对 *t* 检验,多组间进行单因素分析。

结 果

1 AA 增强细胞增殖活力,抑制细胞凋亡

模型组细胞增殖活力显著低于对照组($P < 0.01$),说明心损伤细胞模型被成功构建。积雪草酸组细胞增殖活力显著高于模型组($P < 0.01$)。联合用药组的细胞增殖率显著低于积雪草酸组($P < 0.01$),见表 1。

模型组的细胞凋亡率和 Bax 相对表达水平均显著高于对照组(均 $P < 0.01$),Bcl-2 相对表达水平显著低于对照组($P < 0.01$)。积雪草酸组细胞凋亡率和 Bax 相对表达水平均显著低于模型组(均 $P < 0.01$),Bcl-2 相对表达水平显著高于模型组($P < 0.01$)。联合用药组的细胞凋亡率和 Bax 相对表

达水平均显著高于积雪草组(均 $P < 0.01$), Bcl-2 相对表达水平显著低于积雪草组($P < 0.01$), 见图 1 和表 1。

2 AA 抑制 TLR4/MyD88/NF-κB/NLRP3 通路激活并促进血管生成

模型组细胞的 TLR4、MyD88、NF-κB 和 NLRP3 蛋白相对表达水平均显著高于对照组(均 $P < 0.01$), VEGF 和 CD31 蛋白相对表达水平均显著低于对照组

(均 $P < 0.01$)。积雪草酸组的 TLR4、MyD88、NF-κB 和 NLRP3 蛋白相对表达水平均显著低于模型组(均 $P < 0.01$), VEGF 和 CD31 蛋白相对表达水平均显著高于模型组(均 $P < 0.01$)。联合用药组的 TLR4、MyD88、NF-κB 和 NLRP3 蛋白相对表达水平均显著高于积雪草酸组(均 $P < 0.01$), VEGF 和 CD31 蛋白相对表达水平均显著低于积雪草酸组(均 $P < 0.01$), 见图 2 和表 2。

表 1 积雪草酸(AA)干预后细胞凋亡的变化
Table 1 Changes of apoptosis after asiatic acid (AA) intervention

Group	n	OD ₄₅₀	Apoptosis rate (%)	Protein	
				Bax	Bcl-2
Control	3	0.92 ± 0.01	4.96 ± 0.53	0.12 ± 0.01	0.99 ± 0.02
Model	3	0.61 ± 0.00 ^{**}	24.98 ± 1.68 ^{**}	0.63 ± 0.00 ^{**}	0.34 ± 0.01 ^{**}
AA	3	0.75 ± 0.01 ^{##}	18.22 ± 0.96 ^{##}	0.42 ± 0.02 ^{##}	0.69 ± 0.01 ^{##}
AA + LPS	3	0.50 ± 0.02 ^{△△}	34.17 ± 0.49 ^{△△}	0.96 ± 0.01 ^{△△}	0.10 ± 0.01 ^{△△}

OD:Optical density; Bax;B-cell lymphoma/leukemia-2-associated X protein; Bcl-2;B-cell lymphoma/leukemia-2; Control group;Normal cultivation; Model group;Modeled; AA group;10 μmol·L⁻¹ asiatic acid; AA + LPS group;1 μg·mL⁻¹ LPS + 10 μmol·L⁻¹ AA;Compared with model group, ^{##} $P < 0.01$; Compared with control group, ^{**} $P < 0.01$; Compared with AA group, ^{△△} $P < 0.01$.

表 2 AA 干预后 Toll 样受体 4/髓样分化因子 88/核因子 κB/NOD 样受体蛋白 3 (TLR4/MyD88/NF-κB/NLRP3) 通路蛋白表达变化
Table 2 Changes of TLR4/MyD88/NF-κB/NLRP3 pathway protein expression after AA intervention

Group	TLR4	MyD88	NF-κB	NLRP3	VEGF	CD31
Control	0.19 ± 0.01	0.29 ± 0.02	0.22 ± 0.01	0.17 ± 0.02	0.95 ± 0.01	1.01 ± 0.01
Model	0.65 ± 0.00 ^{**}	0.77 ± 0.00 ^{**}	0.82 ± 0.02 ^{**}	0.75 ± 0.03 ^{**}	0.44 ± 0.02 ^{**}	0.44 ± 0.02 ^{**}
AA	0.41 ± 0.01 ^{##}	0.61 ± 0.01 ^{##}	0.53 ± 0.02 ^{##}	0.50 ± 0.01 ^{##}	0.68 ± 0.02 ^{##}	0.58 ± 0.00 ^{##}
AA + LPS	0.84 ± 0.01 ^{△△}	0.95 ± 0.02 ^{△△}	0.84 ± 0.02 ^{△△}	0.98 ± 0.01 ^{△△}	0.23 ± 0.01 ^{△△}	0.38 ± 0.01 ^{△△}

TLR4;Toll like receptor 4; MyD88;Myeloid differentiation primary response gene 88; NF-κB;Nuclear factor-kappa-B; NLRP3;NLR family pyrin domain containing 3; VEGF;Vascular endothelial growth factor; CD31;Platelet endothelial cell adhesion molecule-1; Compared with control group, ^{**} $P < 0.01$; Compared with model group, ^{##} $P < 0.01$; Compared with AA group, ^{△△} $P < 0.01$.

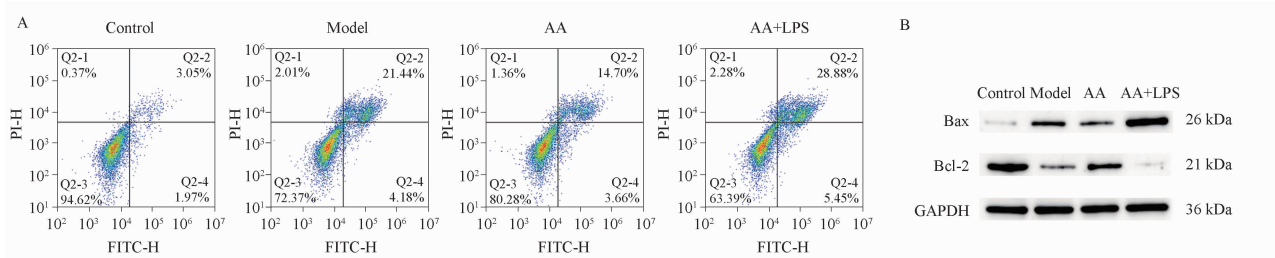


图 1 AA 干预后细胞凋亡的变化
Figure 1 Changes of apoptosis after AA intervention

A: Flow cytometry was used to detect apoptosis rate; B: Western blot was used to detect apoptotic protein expression.

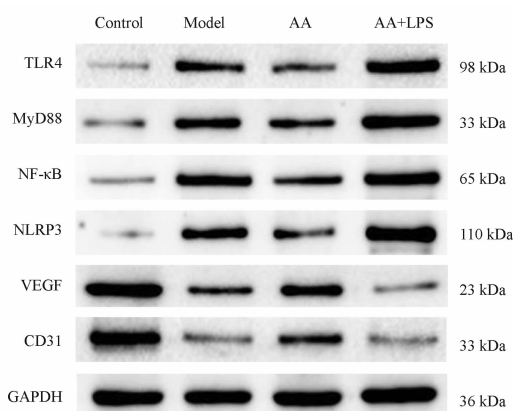


图2 蛋白质印迹法检测 AA 干预后蛋白相对表达水平变化

Figure 2 Changes of protein expression after AA intervention detected by Western blot

讨论

HCY 诱导的内皮细胞损伤是动脉粥样硬化发病机制中的关键事件,可能导致心脏和周围血管相关的血管疾病的发生发展^[11]。中医认为,冠心病属于“雄痹”和“心通”范畴。李双娣等^[12]研究发现,由延胡索、三七、川芎、郁金、人参、冰片组成的宣痹通瘀方能“正气祛瘀”,减轻心肌缺血性损伤,而 AA 是其主要活性成分之一^[13]。复方丹参滴丸在治疗冠心病相关的疾病方面具有较好的疗效,而 AA 是其有效活性成分^[14]。但 AA 在心血管疾病中治疗的具体作用仍不够深入,为此,本研究利用 HCY 诱导 CMECs 构建的冠心病损伤细胞模型进一步探讨 AA 对该模型的作用。

病理条件下,CMECs 受损会引起细胞凋亡、局部炎症反应和微血管栓塞,从而导致冠状动脉血流量减少^[15],加速心脏的不利重塑并恶化心功能^[16]。据报道,AA 具有抗炎、抗氧化和抗细胞凋亡活性,能显著改善心梗小鼠心功能,减少梗塞面积和缺血性心肌损伤^[17]。本研究中,AA 干预冠心病损伤细胞模型后,能够抑制 HCY 诱导的 CMECs 凋亡,提高细胞的增殖活力,增加抗凋亡蛋白 Bcl-2 相对表达水平,下调促凋亡蛋白 Bax 相对表达水平,说明 AA 能减轻 HCY 导致的 CMECs 损伤,可能是冠心病潜在的有效治疗药物,但其作用机制还需要进一步阐明。TLR4 通路在控制炎症和细胞凋亡中起着关键作用^[18]。TLR 特异性抑制剂可以有效抑制冠状动脉微栓塞后大鼠心肌的炎症反应,减轻心肌损伤,其机制为抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号传导,降低 NLRP3 炎症小

体活化^[19]。在受损的人和小鼠心肌中,TLR4 被激活,MyD88 与 TLR4 的胞质结构域结合,导致促炎信号级联的激活,NF- κ B 从 NF- κ B 复合物中释放并转运到细胞核,最终导致促炎细胞因子和炎症体(如 NLRP3)的转录,诱导细胞凋亡^[20-21]。在本研究中,AA 抑制了 HCY 诱导的 TLR4、MyD88、NF- κ B 和 NLRP3 蛋白激活,而 TLR4 激动剂 LPS 会逆转 AA 的作用效果,证实了 AA 对 TLR4/MyD88/NF- κ B/NLRP3 通路的调控作用。研究表明,通过血管网络的恢复来增强心脏修复具有重要意义。心肌梗死后立即进行靶向性 VEGF 治疗,可以通过改善侧支循环和微血管功能,缩小梗死面积,改善心功能^[22]。CD31 是一种在内皮细胞和造血细胞上表达的跨膜蛋白,在血管生成、血管通透性和细胞反应性调节中起重要作用。AL-KEILANI M 等^[23]研究发现,在肺癌患者组织样本中,VEGF 和 CD31 表达水平之间的正相关提示,VEGF 可能与 CD31 协同促进肺癌中的血管生成。在本研究中,AA 促进冠心病损伤细胞模型中 VEGF 和 CD31 的蛋白表达,而 TLR4 激动剂 LPS 会逆转 AA 的作用效果,说明 AA 能够促进血管生成,其机制可能是抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B/NLRP3 通路激活。然而,本研究发现,联合用药组细胞凋亡率和 Bax 的表达均高于模型组,推测 LPS 可能并不是简单的逆转 AA 的作用效果,可能还与 HCY 产生协同作用效应,导致了更严重的细胞损伤,这提示可能需要与 TLR4 抑制剂联用,或需要更高剂量才能克服强烈的炎症驱动,这为开发联合用药策略提供了新的思路。

本研究提示:AA 通过抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B/NLRP3 通路缓解 HCY 诱导的 CMECs 凋亡,促进血管生成,缓解心肌损伤。本研究仅在细胞水平初步明确了 AA 对 HCY 损伤细胞模型的直接保护效应,后续会基于动物模型(如心肌梗死)进一步验证其促血管再生功能,加大样本量,以为冠心病的中药治疗提供更明确的理论依据和实验基础。

参考文献:

- [1] HUANG L, XU R, HUANG X, *et al.* Traditional Chinese medicine injection for promoting blood circulation and removing blood stasis in treating angina pectoris of coronary heart disease: A protocol for systematic review and network Meta-analysis [J/OL]. *Medicine (Baltimore)*, 2021, 100 (16): e25608. 2021-04-23 [2025-04-23]. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000025608>.
- [2] ZHANG Y Y, ZHAO Z D, KONG P Y, *et al.* A comparative pharmacogenomic analysis of three classic TCM prescriptions for coronary heart disease based on molecular network modeling [J].

Acta Pharmacol Sin, 2020, 41(6): 735—744.

- [3] 张生财, 朱卫喜, 江泽宇, 等. 积雪草酸对缺氧/复氧所致心肌细胞损伤的保护作用[J]. 沈阳药科大学学报, 2022, 39(10): 6.
- [4] DAI Y, WANG Z, QUAN M, *et al*. Asiatic acid protects against myocardial ischemia/reperfusion injury via modulation of glycometabolism in rat cardiomyocyte [J/OL]. *Drug Des Devel Ther*, 2018, 12: 3573—3582. 2017 - 10 - 25 [2025 - 04 - 23]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30498333/>.
- [5] CHEN F, CHEN Z Q, ZHONG G L, *et al*. Nicorandil inhibits TLR4/MyD88/NF - κ B/NLRP3 signaling pathway to reduce pyroptosis in rats with myocardial infarction [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2021, 246(17): 1938—1947.
- [6] FANG M, WANAN W, LI Q, *et al*. Asiatic acid attenuates diabetic retinopathy through TLR4/MyD88/NF - κ B p65 mediated modulation of microglia polarization [J/OL]. *Life Sci*, 2021, 277: 119567. 2021 - 07 - 15 [2025 - 04 - 23]. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119567>.
- [7] LI J, GONG J, LI X, *et al*. microRNA - 34a promotes CMECs apoptosis and upregulate inflammatory cytokines, thus worsening CMECs damage and inhibiting angiogenesis by negatively targeting the Notch signaling pathway [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(2): 1598—1609.
- [8] SONG D, JIANG X, LIU Y, *et al*. Asiaticoside attenuates cell growth inhibition and apoptosis induced by A β 1 - 42 via inhibiting the TLR4/NF - κ B signaling pathway in human brain microvascular endothelial cells [J/OL]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 28. 2018 - 01 - 30 [2025 - 04 - 23]. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00028>.
- [9] KATARE P B, NIZAMI H L, PARAMESHA B, *et al*. Activation of toll like receptor 4 (TLR4) promotes cardiomyocyte apoptosis through SIRT2 dependent p53 deacetylation [J/OL]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 19232. 2020 - 11 - 06 [2025 - 04 - 23]. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75301-4>.
- [10] 董伟, 王娟, 赵伟, 等. 右美托咪定调控铁代谢对氧糖剥夺/再灌注心肌细胞损伤的保护作用[J]. 中国临床药理学杂志, 2024, 40(3): 354—357.
- [11] LI J, WANG M, WU X, *et al*. miR - 129 - 5p/FGF2 axis is associated with homocysteine - induced human umbilical vein endothelial cell injury [J]. *Comb Chem High Throughput Screen*, 2024, 27(4): 641—648.
- [12] 李双娣, 成光宇, 刘迎辉, 等. 宣痹通瘀方对急性冠脉缺血大鼠心脏的保护作用及机制[J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(19): 4741—4743.
- [13] 李晓辉, 彭广操, 闫海峰, 等. 采用网络药理学探讨基于“心肝同治”理论的宣痹通瘀方对冠心病的作用机制[J]. 中国中医基础医学杂志, 2022, 28(6): 961—968, 974.
- [14] 李梦兰, 徐天, 李全, 等. 基于网络药理学探究复方丹参滴丸治疗冠状动脉粥样硬化性心脏病的作用机制[J]. 中国医药导刊, 2023, 25(2): 156—162.
- [15] QIN X F, SHAN Y G, GAO J H, *et al*. E3 ubiquitin ligase mind bomb 1 overexpression reduces apoptosis and inflammation of cardiac microvascular endothelial cells in coronary microvascular dysfunction [J/OL]. *Cell Signal*, 2022, 91: 110223. 2021 - 10 - 23 [2025 - 04 - 23]. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2021.110223>.
- [16] 李唯嘉, 荣书玲, 李保. 坏死性凋亡经典通路在心血管疾病中的研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2023, 21(19): 3562—3566.
- [17] QIU F, YUAN Y, LUO W, *et al*. Asiatic acid alleviates ischemic myocardial injury in mice by modulating mitophagy - and glycolysis - based energy metabolism [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2022, 43(6): 1395—1407.
- [18] CHAI R, YE Z, XUE W, *et al*. Tanshinone II A inhibits cardiomyocyte pyroptosis through TLR4/NF - κ B p65 pathway after acute myocardial infarction [J/OL]. *Front Cell Dev Biol*, 2023, 11: 1252942. 2023 - 09 - 12 [2025 - 04 - 23]. <https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1252942>.
- [19] SU Q, LI L, SUN Y, *et al*. Effects of the TLR4/Myd88/NF - κ B signaling pathway on NLRP3 inflammasome in coronary microembolization induced myocardial injury [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 47(4): 1497—1508.
- [20] SHI H, ZHOU P, GAO G, *et al*. Astragaloside IV prevents acute myocardial infarction by inhibiting the TLR4/MyD88/NF - κ B signaling pathway [J/OL]. *J Food Biochem*, 2021, 45(7): e13757. 2021 - 05 - 25 [2025 - 04 - 23]. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13757>.
- [21] YU P, LI Y, FU W, *et al*. *Panax quinquefolius* L. Saponins protect myocardial ischemia reperfusion no - reflow through inhibiting the activation of NLRP3 inflammasome via TLR4/MyD88/NF - κ B signaling pathway [J/OL]. *Front Pharmacol*, 2021, 11: 607813. 2021 - 01 - 15 [2025 - 04 - 23]. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.607813>.
- [22] XU D P, ZOU D Z, QIU H L, *et al*. Traditional Chinese medicine ShenZhuGuanXin granules mitigate cardiac dysfunction and promote myocardium angiogenesis in myocardial infarction rats by upregulating PECAM - 1/CD31 and VEGF expression [J/OL]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017, 2017: 5261729. 2017 - 07 - 03 [2025 - 04 - 23]. <https://doi.org/10.1155/2017/5261729>.
- [23] AL - KEILANI M, ALQUDAH M A, ALMOMANI B, *et al*. GRP78 is overexpressed in non - small cell lung cancer tissues and is associated with high VEGF expression in squamous cell carcinoma: A pilot study [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2023, 23(10): 805—816.

(本文编辑: 马凌云 收稿日期 2025 - 05 - 23)