

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research三白草酮调节 Shh/Gli1 通路对急性心肌梗死
大鼠心肌纤维化及炎症的影响

Research of sauchinone on myocardial fibrosis and inflammatory in rats with acute myocardial infarction by regulating the Shh/Gli1 pathway

丁法明^{1a}, 李 洋^{1a}, 程艳丽^{1a},
韩海涛^{1a}, 胡孟芬^{1b}, 宓宝斌^{1b}(1. 山东医药大学 附属医院 a. 心血管内科;
b. 老年医学科, 山东 滨州 256600)DING Fa-ming^{1a}, LI Yang^{1a},
CHENG Yan-li^{1a}, HAN Hai-tao^{1a},
HU Meng-fen^{1b}, MI Bao-bin^{1b}(1. a. Department of Cardiovascular
Medicine; b. Department of Geriatric
Medicine, Shandong Medical And
Pharmaceutical University Hospital,
Binzhou 256600, Shandong Province,
China)基金项目: 中华国际科学交流基金会检验检测
科技专项基金资助项目 [(2020)
041 号]作者简介: 丁法明(1984-), 男, 副主任医师, 主
要从事冠脉内影像学方面的工作和
研究通信作者: 宓宝斌, 副主任医师, 硕士生导师
Tel: (0543)3258527
E-mail: mxy117@163.com

摘要:目的 探究三白草酮调节音猬因子/胶质瘤相关癌基因同源物 1 (Shh/Gli1) 信号通路对急性心肌梗死大鼠心肌纤维化及炎症损伤的影响。
方法 通过结扎冠状动脉左前降支建立急性心肌梗死大鼠模型。将 72 只大鼠随机分为假手术组(仅开胸缝合不进行结扎)、模型组、低剂量实验组($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 三白草酮)、中剂量实验组($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 三白草酮)、高剂量实验组($25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 三白草酮)和激活剂组[($25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 三白草酮 + $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 嘌呤吗啡胺(purmorphamine, PUR)], 每组 12 只。各组灌胃或腹腔注射相应药物, 连续 7 d。末次给药后, 用酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测炎症因子水平; 用 2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC)染色法评估心肌梗死面积; 用苏木素-伊红(HE)染色法观察心肌组织变化; 用末端脱氧核苷酸转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记法(TUNEL)法观察凋亡细胞; 用二氢乙锭法测定超氧化物阴离子水平; 用马松(Masson)染色法检测胶原蛋白沉积; 用蛋白质印迹法检测 Shh、Gli1 和 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)蛋白表达。
结果 假手术组、模型组、高剂量实验组和激活剂组的大鼠血清中白细胞介素(IL)-6 水平分别为(56.31 ± 9.21)、(113.05 ± 12.03)、(59.67 ± 9.67)和(103.71 ± 11.68) $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$; 肿瘤坏死因子(TNF)- α 水平分别为(136.25 ± 16.92)、(220.16 ± 22.14)、(153.67 ± 17.40)和(208.77 ± 21.65) $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$; IL-1 β 水平分别为(28.59 ± 4.10)、(52.07 ± 5.38)、(30.61 ± 4.31)和(46.22 ± 5.17) $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$; 心肌梗死面积分别为(0 ± 0)%、(28.86 ± 3.42)%、(10.24 ± 1.28)%和(26.94 ± 2.98)%; 炎症评分分别为(0 ± 0)、(2.88 ± 0.32)、(1.34 ± 0.15)和(2.76 ± 0.29)分; 心肌组织凋亡率分别为(2.46 ± 0.25)%、(36.38 ± 3.95)%、(12.23 ± 1.45)%和(34.14 ± 3.73)%; 心肌组织二氢乙锭相对荧光强度分别为(4.58 ± 0.68)%、(39.65 ± 4.27)%、(15.36 ± 1.73)%和(37.31 ± 3.96)%; 心肌组织纤维化面积百分比分别为(11.34 ± 1.32)%、(65.83 ± 6.98)%、(18.48 ± 2.24)%和(61.95 ± 6.36)%; Shh 蛋白相对表达水平分别为 1.04 ± 0.11 、 3.46 ± 0.38 、 1.29 ± 0.16 和 3.28 ± 0.35 ; Gli1 蛋白相对表达水平分别为 1.02 ± 0.11 、 2.73 ± 0.31 、 1.19 ± 0.14 和 2.64 ± 0.29 ; α -SMA 蛋白相对表达水平分别为 1.03 ± 0.13 、 2.33 ± 0.27 、 1.14 ± 0.15 和 2.15 ± 0.23 ; 假手术组与模型组比较、模型组与高剂量实验组比较、高剂量实验组与激活剂组比较, 上述指标在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。
结论 三白草酮可能通过抑制 Shh/Gli1 通路减轻急性心肌梗死大鼠心肌纤维化和炎症损伤。

关键词: 三白草酮; 急性心肌梗死; 心肌纤维化; 炎症损伤; 音猬因子/胶质瘤相关癌基因同源物 1 信号通路

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2026.11.006

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2026)11-1531-07

Abstract: Objective To discuss the effects of sauchinone on myocardial fibrosis and inflammatory injury in rats with acute myocardial infarction by adjusting the sonic hedgehog/glioma - associated oncogene homolog 1 (Shh/Gli1) signaling pathway. **Methods** A rat model of acute myocardial infarction was established by ligation of the left anterior descending coronary artery. A total of 72 rats were randomly divided into six groups: sham group (thoracotomy and suture without ligation), model group, experimental - L group ($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sauchinone), experimental - M group ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sauchinone), experimental - H group ($25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sauchinone) and activator group [$25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sauchinone + $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ purmorphamine (PUR)], with 12 rats in each group. Each group received the corresponding drug by gavage or intraperitoneal injection for 7 consecutive days. After the final administration, inflammatory cytokine levels were measured using enzyme - linked immunosorbent assay (ELISA); myocardial infarct size was assessed by 2,3,5 - triphenyltetrazolium chloride (TTC) staining; myocardial tissue changes were observed using hematoxylin - eosin (HE) staining; apoptotic cells were detected by one - step terminal deoxynucleotidyl transferase - mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) staining; superoxide anion levels were measured using dihydroethidium; collagen deposition was examined by Masson staining; and the protein expressions of Shh, Gli1 and α - smooth muscle actin (α - SMA) were detected by Western blot. **Results** The serum levels of interleukin(IL) - 6 in the sham group, model group, experimental - H group, and activator group were (56.31 ± 9.21), (113.05 ± 12.03), (59.67 ± 9.67) and (103.71 ± 11.68) $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively; tumor necrosis factor(TNF) - α levels were (136.25 ± 16.92), (220.16 ± 22.14), (153.67 ± 17.40) and (208.77 ± 21.65) $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively; IL - 1β levels were (28.59 ± 4.10), (52.07 ± 5.38), (30.61 ± 4.31) and (46.22 ± 5.17) $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively; myocardial infarct sizes were (0 ± 0)%, (28.86 ± 3.42)%, (10.24 ± 1.28)% and (26.94 ± 2.98)%, respectively; inflammation scores were (0 ± 0), (2.88 ± 0.32), (1.34 ± 0.15) and (2.76 ± 0.29), respectively; myocardial apoptosis rates were (2.46 ± 0.25)%, (36.38 ± 3.95)%, (12.23 ± 1.45)% and (34.14 ± 3.73)%, respectively; relative dihydroethidium fluorescence intensity in myocardial tissue was (4.58 ± 0.68)%, (39.65 ± 4.27)%, (15.36 ± 1.73)% and (37.31 ± 3.96)%, respectively; the percentage of myocardial fibrosis area was (11.34 ± 1.32)%, (65.83 ± 6.98)%, (18.48 ± 2.24)% and (61.95 ± 6.36)%, respectively; Shh protein relative expression levels were 1.04 ± 0.11 , 3.46 ± 0.38 , 1.29 ± 0.16 and 3.28 ± 0.35 , respectively; Gli1 protein relative expression levels were 1.02 ± 0.11 , 2.73 ± 0.31 , 1.19 ± 0.14 and 2.64 ± 0.29 , respectively; and α - SMA protein relative expression levels were (1.03 ± 0.13), (2.33 ± 0.27), (1.14 ± 0.15), and (2.15 ± 0.23), respectively. Comparisons between the sham group and the model group, between the model group and the experimental - H group, and between the experimental - H group and the activator group were statistically significant for all the above indicators (all $P < 0.05$). **Conclusion** Sauchinone may alleviate myocardial fibrosis and inflammatory injury in rats with acute myocardial infarction by inhibiting the Shh/Gli1 signaling pathway.

Key words: sauchinone; acute myocardial infarction; myocardial fibrosis; inflammatory injury; sonic hedgehog/glioma - associated oncogene homolog 1 signaling pathway

急性心肌梗死是冠状动脉阻塞致心肌缺血坏死的心血管事件,心肌缺血/再灌注损伤可加重心功能下降^[1]。尽管再灌注治疗改善了预后,但现有方案仍有较大提升空间^[2]。音猬因子(sonic hedgehog,Shh)/胶质瘤相关癌基因同源物1(glioma - associated oncogene homolog 1,Gli1)通路已被证实与组织纤维化相关;成纤维细胞生长因子23可通过激活该通路促进慢性肾脏病诱导的心肌纤维化^[3]。在血管紧张素

II诱导下,受损心肌细胞通过释放Shh外泌体引发心脏肥大和纤维化^[4]。嘌呤啡胺(purmorphamine,PUR)为小分子平滑蛋白(smoothed,Smo)受体激动剂,腹腔注射后吸收迅速,可以激活Shh/Gli1通路。三白草酮作为具有抗炎、抗氧化作用的木脂素,可减轻阿霉素诱导的慢性心脏损伤并延缓急性心肌病进展^[5]。但其是否通过调控Shh/Gli1通路影响急性心肌梗死大鼠心肌纤维化仍需进一步研究。明确三白草酮调

控 Shh/Gli1 通路的机制,可为急性心肌梗死后心肌纤维化的防治提供新靶点。因此,本研究以急性心肌梗死大鼠为模型,分析三白草酮干预对心肌纤维化和炎症损伤的影响及机制。

材料与方法

1 材料

动物 雄性 SD 大鼠,鼠龄 6~8 周,体质量 200~240 g,南通药明康德医药科技有限公司提供。生产许可证号:SCXK(苏)2024-0014,使用许可证号:SYXK(苏)2023-0009。本实验经滨州医学院动物伦理委员会批准(伦理批号:2025-020-037)。

药品与试剂 三白草酮,规格:每瓶 10 mg,纯度:99.88%,批号:HY-N0613,PUR,规格:每瓶 10 mg,纯度:99.9%,批号:HY-15108,均由美国 Med Chem Express 公司生产;苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色试剂盒、2,3,5-氯化三苯基四氮唑(2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride, TTC)染色液和 Masson 三色染色试剂盒,均由上海碧云天生物技术有限公司生产;一步法末端脱氧核苷酸转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记法(one-step terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling, TUNEL)原位细胞凋亡检测试剂盒,湖北武汉尚恩生物技术有限公司生产;超氧化物阴离子荧光探针,北京百奥莱博科技有限公司生产;增强型化学发光检测试剂盒,上海雅酶生物医药科技有限公司生产;Gli1 兔单克隆抗体、Shh 兔单克隆抗体、 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)兔单克隆抗体、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)兔单克隆抗体和山羊抗兔免疫球蛋白 G 二抗,均由英国 Abcam 公司生产。

仪器 CX33 显微镜,日本 Olympus 公司产品;LSM 900 激光共聚焦显微镜,德国 Carl Zeiss 公司产品;Gel Doc XR+凝胶成像系统,美国 Bio-Rad 公司产品;ALC-V8S 小动物呼吸机,上海奥尔科特生物技术有限公司产品;RM6240EC 多通道生理信号采集处理系统,四川成都仪器厂产品。

2 实验方法

2.1 模型构建^[6-7]

所有大鼠均在受控温度(22 ± 1)℃、相对湿度(65~70)%和 12 h/12 h 光暗循环的特定无病原体环境中饲养,适应性喂养 7 天。60 只大鼠接受冠状动脉左前降支结扎手术,以诱导急性心肌梗死模型。手术

前,所有大鼠禁水 4 h,禁食 12 h,并经腹腔注射 2% 戊巴比妥钠($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)进行麻醉,连接 ALC-V8S 小动物呼吸机,进行机械辅助通气。然后,将大鼠的肢体用针灸电极连接到 RM6240EC 多通道生理信号采集处理系统,监测和记录心电图。完成开胸操作后,暴露并剪开心包,定位左心耳下方约 3 mm 位置,以 6~0 缝合线对冠状动脉左前降支进行结扎。当左心室心肌由红变为白,伴有心尖脉减弱和心电图 ST 段显著抬高时,即判定造模成功,随后缝合大鼠胸腔。12 只大鼠仅进行开胸和缝合,不进行结扎为假手术组。

2.2 动物分组与处理方法^[8-9]

60 只大鼠均成功构建急性心肌梗死模型,造模成功率 100%,无死亡或淘汰情况。将 60 只造模成功大鼠随机分为模型组、低剂量实验组、中剂量实验组、高剂量实验组、激活剂组,低、中、高剂量实验组大鼠分别灌胃 5、10、25 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 三白草酮,给药体积为 10 $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,每日 1 次。激活剂组大鼠灌胃 25 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 三白草酮后,腹腔注射 10 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Shh 激活剂 PUR(5 $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,每日 1 次),其余组灌胃和腹腔注射等量生理盐水,给药 7 天。

2.3 酶联免疫吸附实验法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测炎症因子^[10]

给药 7 d 后,腹主动脉采血,离心取上清,依据 ELISA 试剂盒说明书检测白细胞介素(interleukin, IL)-6、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 、IL-1 β 水平。

2.4 TTC 染色法评估梗死面积^[11]

采血完成后,取大鼠心肌组织在 -2 ℃ 下快速冷冻 20 min,以便于切片,切片厚度为 2~3 mm。将切片置于 37℃ 预温的 2% TTC 染液中,避光孵育 20 min。取出后以 4% 多聚甲醛固定 24 h,随后对切片进行数码拍照。用 Image J 图像分析软件计算心肌梗死面积,以白色区域(梗死区)占整个心肌切片面积(白色+红色区域)的百分比表示梗死面积。

2.5 HE 染色法观察心肌组织变化^[10]

取心肌组织置于 4% 多聚甲醛中充分固定,并经梯度乙醇脱水、透明、浸蜡后包埋于石蜡块中。采用石蜡切片机将组织块切成厚度为 5 μm 的薄片。切片常规脱蜡、水化处理后,依次使用苏木素染液染色 8 min、伊红染液染色 1 min,完成细胞核与细胞质的对比染色。用显微镜观察心肌组织变化并进行炎症评分,具体标准为 0 分:无炎症;1 分:炎症范围 < 5%;2 分:炎症范围 5~10%;3 分:炎症范围 10~25%;4 分:炎症范围 > 25%。

2.6 TUNEL 染色法观察凋亡细胞^[7]

将石蜡切片脱蜡水化,洗涤,滴加 100 μL 1 $\times$ 蛋白酶 K 工作液,37 $^{\circ}\text{C}$ 反应 20 min,按照说明书步骤行 TUNEL 标记和 4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)染色,在激光共聚焦显微镜下观察切片并拍照。每组随机选取 5 张切片,每张取 5 个高倍视野,计算凋亡率=(TUNEL 阳性细胞数/DAPI 阳性细胞数) $\times$ 100%,取均值作为该组凋亡率。

2.7 二氢乙锭法测定超氧化物阴离子水平^[8]

心脏冷冻切片在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下用 20 nmol $\cdot$ L⁻¹ 二氢乙锭(超氧化物阴离子荧光探针)染色 15 min。用激光共聚焦显微镜在 488 nm/610 nm 的激发/发射波长下,观察并拍摄切片。

2.8 Masson 染色法检测胶原蛋白沉积^[11]

根据 Masson 三色染色试剂盒说明书,将石蜡切片进行 Masson 三色染色,并在光学显微镜下观察胶原蛋白沉积。通过纤维化面积与总心肌面积的比值分析胶原蛋白沉积。

2.9 蛋白质印迹法检测 Shh 和 Gli1 蛋白表达^[10]

裂解液提取心肌组织蛋白质,并通过二辛可宁酸法测定蛋白质浓度,每孔上样蛋白 30 μg ,经 10% 聚丙烯酰胺凝胶电泳(浓缩胶 80 V,分离胶 120 V,约 90 min),湿转法 300 mA 恒流冰浴转膜 90 min 至聚偏二氟乙烯膜。使用含有脱脂奶粉的 Tris-吐温缓冲盐溶液阻断与膜的非特异性结合,将膜与 Gli1、Shh、 α -SMA、GAPDH 一抗在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育过夜,然后与二抗在室温下孵育 30 min,并与增强化学发光反应显色,对结果进行扫描和分析。

3 统计学处理

用 SPSS 25.0 软件进行统计学分析,计数资料用率(%)表示,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较和组间比较分别用单因素方差分析(one-way ANOVA)和国基(Tukey)检验。

结 果

1 各组大鼠炎症因子水平的比较

与假手术组相比,模型组大鼠的 IL-6、TNF- α 、IL-1 β 水平均显著升高(均 $P < 0.05$);与模型组相比,低、中、高剂量实验组大鼠的 IL-6、TNF- α 、IL-1 β 水平均显著降低(均 $P < 0.05$);与高剂量实验组相比,激活剂组大鼠的 IL-6、TNF- α 、IL-1 β 水平均显著升高(均 $P < 0.05$),见表 1。

2 各组大鼠心肌梗死面积的比较

与假手术组相比,模型组大鼠心肌梗死面积显著增加($P < 0.05$);与模型组相比,低、中、高剂量实验组大鼠心肌梗死面积均显著减少(均 $P < 0.05$);与高剂量实验组相比,激活剂组大鼠心肌梗死面积显著增加($P < 0.05$),见表 2。

3 各组大鼠心肌组织 HE 染色的比较

与假手术组相比,模型组大鼠心肌纤维断裂,细胞肿胀,炎症浸润明显,炎症评分显著升高($P < 0.05$);与模型组相比,低、中、高剂量实验组大鼠心肌组织炎症评分均显著降低(均 $P < 0.05$);与高剂

表 2 各组大鼠心肌梗死面积的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of myocardial infarct size in rats of each group($\bar{x} \pm s$)

Group	<i>n</i>	myocardial infarction area(%)
Sham	6	0 $\pm$ 0
Model	6	28.86 $\pm$ 3.42 *
Experimental-L	6	22.13 $\pm$ 2.57 #
Experimental-M	6	16.32 $\pm$ 1.94 Δ
Experimental-H	6	10.24 $\pm$ 1.28 $\blacktriangle$
Activator	6	26.94 $\pm$ 2.98 *

Compared with sham group, * $P < 0.05$; Compared with model group, # $P < 0.05$; Compared with experimental-L group, Δ $P < 0.05$; Compared with experimental-M group, $\blacktriangle$ $P < 0.05$; Compared with experimental-H group, * $P < 0.05$.

表 1 各组大鼠炎症因子的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of inflammatory factors in rats of each group($\bar{x} \pm s$)

Group	Dose	<i>n</i>	IL-6($\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	TNF- α ($\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	IL-1 β ($\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$)
Sham	-	12	56.31 $\pm$ 9.21	136.25 $\pm$ 16.92	28.59 $\pm$ 4.10
Model	-	12	113.05 $\pm$ 12.03 *	220.16 $\pm$ 22.14 *	52.07 $\pm$ 5.38 *
Experimental-L	5 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sauchinone	12	95.62 $\pm$ 10.85 #	192.55 $\pm$ 19.88 #	41.37 $\pm$ 5.02 #
Experimental-M	10 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sauchinone	12	71.20 $\pm$ 10.03 Δ	171.43 $\pm$ 18.32 Δ	35.92 $\pm$ 4.66 Δ
Experimental-H	25 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sauchinone	12	59.67 $\pm$ 9.67 $\blacktriangle$	153.67 $\pm$ 17.40 $\blacktriangle$	30.61 $\pm$ 4.31 $\blacktriangle$
Activator	25 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sauchinone + 10 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ PUR	12	103.71 $\pm$ 11.68 *	208.77 $\pm$ 21.65 *	46.22 $\pm$ 5.17 *

IL-6: Interleukin-6; TNF- α : Tumor necrosis factor- α ; IL-1 β : Interleukin-1 β ; Compared with sham group, * $P < 0.05$; Compared with model group, # $P < 0.05$; Compared with experimental-L group, Δ $P < 0.05$; Compared with experimental-M group, $\blacktriangle$ $P < 0.05$; Compared with experimental-H group, * $P < 0.05$.

量实验组相比,激活剂组大鼠心肌组织炎症评分显著提高($P<0.05$),见图1和表3。

4 各组大鼠心肌组织 TUNEL 染色的比较

模型组较假手术组大鼠心肌组织细胞凋亡率显著升高($P<0.05$);低、中、高剂量实验组较模型组大鼠心肌组织细胞凋亡率均显著降低(均 $P<0.05$);与高剂量实验组相比,激活剂组大鼠心肌组织细胞凋亡率显著提高($P<0.05$),见表4。

5 各组大鼠心肌组织超氧化物阴离子水平的比较

与假手术组相比,模型组大鼠心肌组织相对荧光

强度显著提高($P<0.05$);与模型组相比,低、中、高剂量实验组大鼠心肌组织相对荧光强度均显著降低(均 $P<0.05$);与高剂量实验组相比,激活剂组大鼠心肌组织相对荧光强度显著提高($P<0.05$),见表5。

6 各组大鼠心肌组织 Masson 染色的比较

与假手术组相比,模型组大鼠心肌组织胶原蛋白沉积显著增加($P<0.05$);与模型组相比,低、中、高剂量实验组大鼠心肌组织胶原蛋白沉积均显著减少(均 $P<0.05$);与高剂量实验组相比,激活剂组大鼠心肌组织胶原蛋白沉积显著增加($P<0.05$),见表6。

表3 各组大鼠心肌组织炎症评分的比较($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of myocardial tissue inflammation scores in rats of each group($\bar{x}\pm s$)

Group	n	Inflammatory score(points)
Sham	6	0±0
Model	6	2.88±0.32 [*]
Experimental - L	6	2.35±0.26 [#]
Experimental - M	6	1.86±0.21 [△]
Experimental - H	6	1.34±0.15 [▲]
Activator	6	2.76±0.29 [*]

Compared with sham group, ^{*} $P<0.05$; Compared with model group, [#] $P<0.05$; Compared with experimental - L group, [△] $P<0.05$; Compared with experimental - M group, [▲] $P<0.05$; Compared with experimental - H group, ^{*} $P<0.05$.

表4 各组大鼠心肌组织凋亡率的比较($\bar{x}\pm s$)

Table 4 Comparison of myocardial tissue apoptosis rate in rats of each group($\bar{x}\pm s$)

Group	n	Apoptosis rate(%)
Sham	6	2.46±0.25
Model	6	36.38±3.95 [*]
Experimental - L	6	28.17±3.12 [#]
Experimental - M	6	19.95±2.31 [△]
Experimental - H	6	12.23±1.45 [▲]
Activator	6	34.14±3.73 [*]

Compared with sham group, ^{*} $P<0.05$; Compared with model group, [#] $P<0.05$; Compared with experimental - L group, [△] $P<0.05$; Compared with experimental - M group, [▲] $P<0.05$; Compared with experimental - H group, ^{*} $P<0.05$.

表5 各组大鼠心肌组织二氢乙锭相对荧光强度的比较($\bar{x}\pm s$)

Table 5 Comparison of dihydroethidium relative fluorescence intensity in myocardial tissue of rats of each group($\bar{x}\pm s$)

Group	n	Relative fluorescence intensity(%)
Sham	6	4.58±0.68
Model	6	39.65±4.27 [*]
Experimental - L	6	31.58±3.42 [#]
Experimental - M	6	23.43±2.54 [△]
Experimental - H	6	15.36±1.73 [▲]
Activator	6	37.31±3.96 [*]

Compared with sham group, ^{*} $P<0.05$; Compared with model group, [#] $P<0.05$; Compared with experimental - L group, [△] $P<0.05$; Compared with experimental - M group, [▲] $P<0.05$; Compared with experimental - H group, ^{*} $P<0.05$.

表6 各组大鼠心肌组织纤维化面积百分比的比较($\bar{x}\pm s$)

Table 6 Comparison of percentage of fibrotic area in myocardial tissue of rats of each group($\bar{x}\pm s$)

Group	n	Percentage of fibrotic area(%)
Sham	6	11.34±1.32
Model	6	65.83±6.98 [*]
Experimental - L	6	49.86±5.23 [#]
Experimental - M	6	34.52±3.94 [△]
Experimental - H	6	18.48±2.24 [▲]
Activator	6	61.95±6.36 [*]

Compared with sham group, ^{*} $P<0.05$; Compared with model group, [#] $P<0.05$; Compared with experimental - L group, [△] $P<0.05$; Compared with experimental - M group, [▲] $P<0.05$; Compared with experimental - H group, ^{*} $P<0.05$.

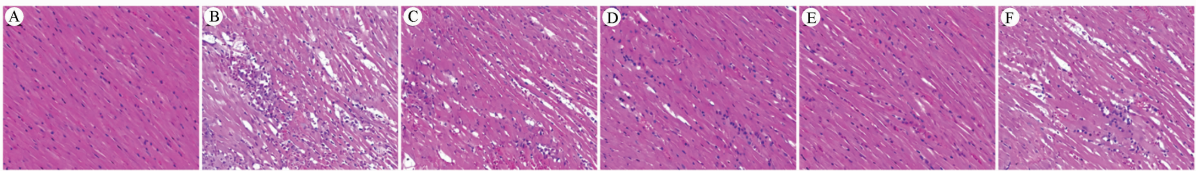


图1 各组大鼠心肌组织苏木精 - 伊红(HE)染色(×200)

Figure 1 Hematoxylin eosin(HE) staining of myocardial tissue in rats of each group (×200)

A: Sham group; B: Model group; C: Experimental - L group; D: Experimental - M group; E: Experimental - H group; F: Activator group.

7 各组大鼠心肌组织中蛋白表达的比较

较假手术组,模型组 Shh、Gli1 和 α -SMA 蛋白相对表达水平均显著提高(均 $P < 0.05$);与模型组相比,低、中、高剂量实验组大鼠心肌组织中 Shh、Gli1 和 α -SMA 蛋白相对表达水平均显著降低(均 $P < 0.05$);与高剂量实验组相比,激活剂组大鼠心肌组织中 Shh、Gli1 和 α -SMA 相对表达水平均显著提高(均 $P < 0.05$),见图2和表7。

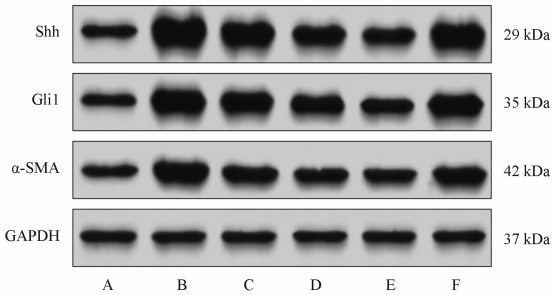


图2 蛋白质印迹法检测音猬因子(Shh)、胶质瘤相关癌基因同源物1(Gli1)、 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)蛋白相对表达水平

Figure 2 Western blot analysis of sonic hedgehog (Shh), glioma-associated oncogene homolog 1 (Gli1), and α -smooth muscle actin (α -SMA) protein relative expressions levels

A: Sham group; B: Model group; C: Experimental - L group; D: Experimental - M group; E: Experimental - H group; F: Activator group.

表7 各组大鼠心肌组织中 Shh、Gli1、 α -SMA 蛋白相对表达水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 7 Comparison of sonic Shh, Gli1, and α -SMA protein relative expression levels in myocardial tissue of rats of each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Shh	Gli1	α -SMA
Sham	6	1.04 $\pm$ 0.11	1.02 $\pm$ 0.11	1.03 $\pm$ 0.13
Model	6	3.46 $\pm$ 0.38 *	2.73 $\pm$ 0.31 *	2.33 $\pm$ 0.27 *
Experimental - L	6	2.71 $\pm$ 0.30 #	2.19 $\pm$ 0.25 #	1.76 $\pm$ 0.21 #
Experimental - M	6	1.98 $\pm$ 0.24 Δ	1.68 $\pm$ 0.19 Δ	1.40 $\pm$ 0.18 Δ
Experimental - H	6	1.29 $\pm$ 0.16 $\blacktriangle$	1.19 $\pm$ 0.14 $\blacktriangle$	1.14 $\pm$ 0.15 $\blacktriangle$
Activator	6	3.28 $\pm$ 0.35 *	2.64 $\pm$ 0.29 *	2.15 $\pm$ 0.23 *

Shh: Sonic hedgehog; Gli1: Glioma-associated oncogene homolog 1; α -SMA: α -smooth muscle actin; Compared with sham group, * $P < 0.05$; Compared with model group, # $P < 0.05$; Compared with experimental - L group, Δ $P < 0.05$; Compared with experimental - M group, $\blacktriangle$ $P < 0.05$; Compared with experimental - H group, * $P < 0.05$.

讨 论

急性心肌梗死是全世界范围内导致心源性猝死

最常见的原因之一,其病理过程与炎症反应密切相关。急性心肌梗死不仅是心肌缺血坏死事件,更是慢性炎症状态急性发作的重要先兆,可诱发过度且失控的炎症反应^[9]。炎症既是动脉粥样硬化的病理生理学标志,也是急性心肌梗死的触发因素和直接有害后果^[12]。因此,调控适度的炎症反应对于改善急性心肌梗死患者预后具有重要意义。

研究显示,三白草酮在巨噬细胞、肝细胞和神经细胞中发挥保护作用,主要通过调节线粒体功能、细胞增殖等发挥作用^[13]。在肾脏疾病模型中,三白草酮可通过改善纤维化与炎症反应,保护肾系膜细胞免受血管紧张素 II 的损伤,并抑制单侧输尿管结扎小鼠的肾组织纤维化^[14-15]。本研究用不同剂量三白草酮处理急性心肌梗死模型大鼠,发现其均能减少心肌梗死面积和细胞凋亡,降低血清炎症因子水平及心肌组织超氧化物阴离子水平,并减轻胶原蛋白沉积。表明三白草酮能够减轻急性心肌梗死大鼠心肌纤维化和炎症损伤。另有研究表明,三白草酮通过灭活 Shh 通路抑制缺氧诱导的骨肉瘤细胞侵袭和上皮-间充质转化^[16],体现了其对 Shh 通路的调控作用。Shh/Gli1 通路是 Hedgehog 家族的重要成员,近年大量研究证实,其参与肝、肺、肾及心脏等多种器官的纤维化进程^[17]。抑制 Shh 通路可显著减少肾纤维化并保护肾功能^[18];加味枳实薤白桂枝汤能改善大鼠心梗后心功能及心肌纤维化,其作用机制可能与抑制 Shh 通路的过度活化有关^[19]。本研究发现,急性心肌梗死大鼠心肌组织中 Shh、Gli1 和 α -SMA 蛋白表达提高,提示该通路在心肌梗死后的组织损伤与修复过程中被异常激活;低、中、高剂量三白草酮给药抑制上述蛋白表达,同时心肌纤维化和炎症损伤得到明显缓解。为进一步验证 Shh/Gli1 通路的介导作用,本研究用 Shh 特异性激活剂 PUR 进行反向验证,结果显示, PUR 可显著逆转三白草酮对 Shh 和 Gli1 蛋白表达的抑制作用,同时三白草酮的心肌保护效应被部分抵消。综合上述结果,提示三白草酮可能通过抑制 Shh/Gli1 通路减轻急性心肌梗死大鼠心肌纤维化和炎症损伤。然而,本研究存在一定局限性:①仅检测 Shh 和 Gli1 2 个核心蛋白,尚未检测通路下游靶基因表达变化及 Gli1 核转位情况。②仅观察了给药 7 d 后的短期疗效,未对长期心室重构及心功能转归进行随访评估。③三白草酮最佳给药剂量、给药途径及给药窗口期仍需进一步优化。未来研究可从以下方面开展:①检测 Shh/Gli1 通路更完整的信号网络,并结合免疫荧光观察 Gli1 的核转位情况。②构建心肌特异性 Shh 或

Gli1 基因敲减/过表达模型,从遗传学角度验证通路的因果关系;③延长观察周期,结合超声心动图评估心功能的长期改变,并探索三白草酮的临床转化潜力。

本研究提示:三白草酮可能通过抑制 Shh/Gli1 通路减轻急性心肌梗死大鼠心肌纤维化和炎症损伤。本研究揭示了三白草酮抗心肌缺血损伤的新机制,证实其可通过调控 Shh/Gli1 通路发挥心脏保护作用。这一发现为三白草酮作为急性心肌梗死辅助治疗药物的开发提供了坚实的实验依据,有望拓展三白草酮的临床应用范围,为改善急性心肌梗死患者的远期预后提供新的治疗策略和理论支撑。

参考文献:

- [1] ZHU L, LIU Y, WANG K, *et al.* Regulated cell death in acute myocardial infarction: Molecular mechanisms and therapeutic implications[J]. *Ageing Res Rev*, 2025, 104(1):102629.
- [2] SAITO Y, OYAMA K, TSUJITA K, *et al.* Treatment strategies of acute myocardial infarction: Updates on revascularization, pharmacological therapy, and beyond [J]. *J Cardiol*, 2023, 81(2):168—178.
- [3] LI L, GAN H. Intact fibroblast growth factor 23 regulates chronic kidney disease - induced myocardial fibrosis by activating the sonic hedgehog signaling pathway [J/OL]. *J Am Heart Assoc*, 2022, 11(18):e026365. 2022 - 09 - 14 [2026 - 01 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36102251/>.
- [4] WANG C, LAI Z, TAN H, *et al.* Impaired cardiomyocytes accelerate cardiac hypertrophy and fibrosis by delivering exosomes containing Shh/N - Shh/Gli1 in angiotensin II infused mice [J/OL]. *Heliyon*, 2024, 10(20):e39332. 2024 - 10 - 12 [2026 - 01 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39640644/>.
- [5] XIN W, YANG H, HENG X, *et al.* Sauchinone preserves cardiac function in doxorubicin - induced cardiomyopathy by inhibiting the NLRP3 inflammasome [J]. *Phytomedicine*, 2025, 140(1):156624.
- [6] WANG D, TIAN L, LV H, *et al.* Chlorogenic acid prevents acute myocardial infarction in rats by reducing inflammatory damage and oxidative stress [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 132(1):110773.
- [7] 李玉涛,熊冬艳,吴茜. 川芎嗪对急性心肌梗死大鼠炎症及心肌细胞凋亡的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2024, 40(11):1593—1597.
- [8] 王露,李纯,叶雨佳,等. 体外心脏震波治疗通过 Rho/ROCK/ERK 信号通路对心肌梗死大鼠心肌重构的影响[J]. 中国心血管杂志, 2024, 29(6):517—524.
- [9] ISAILĂ O M, ION O M, LUTA R, *et al.* Postmortem immunohistochemical findings in early acute myocardial infarction: A systematic review[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(14):7625.
- [10] 马艺杰,张由建,王记培,等. 黄芪生脉饮调控 P2X7R/NLRP3 通路对急性心肌梗死大鼠心肌纤维化的影响[J]. 解剖学报, 2025, 56(6):713—720.
- [11] 肖锦亮,邹雪,但家朋. 阿芬太尼调节 SphK1/S1P 信号通路对急性心肌梗死大鼠心肌纤维化的影响[J]. 中国药房, 2024, 35(8):955—960.
- [12] MATTER M A, TSCHAIKOWSKY T, STÄHLI B E, *et al.* Acute - on - chronic inflammation in acute myocardial infarction [J]. *Curr Opin Cardiol*, 2024, 39(6):535—542.
- [13] WU K, LIU X, MENG X, *et al.* Sauchinone alleviates dextran sulfate sodium - induced ulcerative colitis *via* NAD (P) H dehydrogenase [quinone] 1/NF - κ B pathway and gut microbiota [J]. *Front Microbiol*, 2023, 13(1):1084257.
- [14] YOON J J, LEE H K, KIM H Y, *et al.* Sauchinone protects renal mesangial cell dysfunction against angiotensin II by improving renal fibrosis and inflammation [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(19):7003.
- [15] 吴朋烺,赵铃,李秋月,等. 三白草酮对 UUO 小鼠肾组织纤维化的抑制作用及其机制 [J]. 中国实验动物学报, 2024, 32(10):1270—1280.
- [16] ZHOU D, HE L. Sauchinone inhibits hypoxia - induced invasion and epithelial - mesenchymal transition in osteosarcoma cells *via* inactivation of the sonic hedgehog pathway [J]. *J Recept Signal Transduct Res*, 2022, 42(2):173—179.
- [17] SIGAFOOS A N, PARADISE B D, FERNANDEZ - ZAPICO M E. Hedgehog/GLI signaling pathway: Transduction, regulation, and implications for disease [J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(14):3410.
- [18] LI Y, TU H, LUO Y, *et al.* Shen - Shuai - Ling formulation attenuates renal interstitial fibrosis in chronic kidney disease by regulating SHH - Gli1 signaling pathway [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022(1):3754985.
- [19] 贺承莉,陈小青,李湘海. 加味枳实薤白桂枝汤对大鼠心肌梗后心肌纤维化的改善作用[J]. 中药材, 2024, 47(1):202—207.

(本文编辑:王珊 收稿日期 2026 - 01 - 07)