

基于 PTBP1/PKM2 通路探讨君仁补肺益心颗粒 防治低氧性肺动脉高压的作用机制

郑润锈^{1,2}, 王石中¹, 谭骏岚², 曹闲雅^{1,2}, 黄威^{1,2}, 戴晴^{1,2}, 宋岚², 戴爱国^{1,2,3,4*}

- (1. 湖南中医药大学 中西医结合学院, 湖南 长沙 410208;
2. 血管生物学与转化医学湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410208;
3. 湖南中医药大学 医学院 呼吸疾病研究室, 湖南 长沙 410208;
4. 湖南中医药大学第一附属医院 呼吸科, 湖南 长沙 410021)

[摘要] 基于多聚嘧啶片段结合蛋白 1 (PTBP1)/丙酮酸激酶 M2 (PKM2) 通路, 探讨君仁补肺益心颗粒 (JRBF) 对低氧性肺动脉高压 (HPH) 小鼠的治疗作用及分子机制。体内实验部分, 将 60 只 SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠随机分成正常组, 模型组, 西地那非组, JRBF 低、中、高剂量组。每日给予药物灌胃后, 进行常压低氧 10%±0.5% 造模 8 h, 连续 4 周, 采用右心导管法检测各组小鼠右心室收缩压 (RVSP), 小动物 B 超机检测肺动脉加速时间 (PAAT)、肺射血时间 (PET)、三尖瓣环收缩期位移 (TAPSE) 和舒张期右心室前壁厚度 (RVAWd), HE 染色和 Masson 染色检测肺小动脉病理改变、心肌细胞面积和胶原沉积情况, Western blot 检测小鼠肺组织中 PTBP1、PKM2 和 PKM1 表达, 免疫荧光检测 PTBP1 和肺动脉平滑肌细胞 (PASMCs) 标志蛋白 α -SMA 的共定位表达, 乳酸测定试剂盒检测肺组织和血清中乳酸含量。体外实验部分, 低氧 (1%, 48 h) 诱导人肺动脉平滑肌细胞 (hPASMCs) 建立模型, CCK-8 实验筛选出 JRBF 含药血清最佳干预浓度 (10%), 进一步通过 EdU/Transwell 分别检测细胞增殖、迁移能力, Western blot 检测小鼠肺组织中 PTBP1、PKM2 和 PKM1 表达, 试剂盒检测乳酸生成。结果提示, JRBF 显著改善 HPH 小鼠 RVSP、PAAT/PET、TAPSE, 减轻肺血管重塑、心肌细胞肥大及胶原纤维沉积; JRBF 下调肺组织和 PASMCs 中 PTBP1、PKM2 表达, 抑制乳酸蓄积; 10% JRBF 含药血清可抑制低氧诱导的 hPASMCs 增殖、迁移, 降低细胞乳酸生成及 PTBP1、PKM2 表达。综上所述, JRBF 可能通过抑制 PTBP1/PKM2 信号轴, 调控糖酵解途径, 从而拮抗 HPH 发生发展。

[关键词] 君仁补肺益心颗粒; 低氧性肺动脉高压; PTBP1/PKM2 通路; 肺动脉平滑肌细胞; 糖酵解

Junren Bufei Yixin Granules attenuates hypoxic pulmonary hypertension via PTBP1/PKM2 signaling pathway

ZHENG Run-xiu^{1,2}, WANG Shi-zhong¹, TAN Jun-lan², CAO Xian-ya^{1,2}, HUANG Wei^{1,2}, DAI Qing^{1,2},
SONG Lan², DAI Ai-guo^{1,2,3,4*}

- (1. School of Integrated Chinese and Western Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China;
2. Hunan Provincial Key Laboratory of Vascular Biology and Translational Medicine, Changsha 410208, China;
3. Department of Respiratory Diseases, Medical School, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China;
4. Department of Respiratory Medicine, the First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410021, China)

[Abstract] This study is aimed to investigate the therapeutic effects of Junren Bufei Yixin Granules (JRBF) on hypoxic pulmonary hypertension (HPH) and explore the therapeutic mechanism through the polypyrimidine tract-binding protein 1 (PTBP1)/pyruvate kinase isozyme type M2 (PKM2) signaling pathway. Sixty SPF-grade C57BL/6 male mice were randomized into normal, model,

[收稿日期] 2025-05-07

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (82370069); 湖南省科技攻关项目-芙蓉实验室科技攻关项目 (2023SK2089); 湖南省自然科学基金项目 (2024JJ5299); 湖南省卫健委重大科研专项 (R2023097); 2024 年湖南省研究生科研创新项目 (CX20240727)

[通信作者] *戴爱国, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事中西医结合防治呼吸系统疾病研究, E-mail: daiaguo@hnu cm. edu. cn

[作者简介] 郑润锈, 博士研究生, E-mail: 20232134@hnu cm. edu. cn

sildenafil, and low/medium/high-dose JRBF groups. HPH was induced by hypoxic exposure (10% O₂, 8 h/day) for 4 weeks. The right ventricular systolic pressure (RVSP) was measured by right cardiac catheterization. Echocardiography was employed record the pulmonary artery acceleration time (PAAT), pulmonary ejection time (PET), tricuspid annular plane systolic excursion (TAPSE), and right ventricular anterior wall thickness at diastole (RVAWd). The histopathological changes were observed by hematoxylin-eosin (HE) and Masson staining. Western blot was employed to measure the expression levels of PTBP1, PKM2, and PKM1 in the lung tissue. The immunofluorescence assay was employed to detect the co-localization of PTBP1 with the marker alpha-smooth muscle actin (α -SMA) of pulmonary arterial smooth muscle cells (PASMCs). The lactate assay kit was used to measure the lactate levels in the serum and lung tissue. In the cell experiments, the hypoxia model was established by exposing human pulmonary artery smooth muscle cells (hPASMCs) to 1% O₂ for 48 h. The optimal (10%) JRBF concentration for intervention was determined by the cell-counting kit-8 (CCK-8). The cell proliferation (EdU), migration (Transwell), PTBP1/PKM2/PKM1, and lactate production were analyzed. The results showed that JRBF significantly reduced the RVSP, improved the PAAT/PET ratio and TAPSE, and attenuated pulmonary arteriolar remodeling and myocardial fibrosis. Furthermore, JRBF suppressed PTBP1 and PKM2 expression and reduced the lactate accumulation in the lung tissue and PASMCs. The cell experiment results showed that the 10% JRBF-containing serum inhibited the proliferation and migration of hPASMCs, while decreasing the PTBP1/PKM2 expression and lactate production. In conclusion, JRBF mitigates HPH progression by suppressing the PTBP1/PKM2 axis and restoring the glycolytic flux.

[Key words] Junren Bufe Yixin Granules; hypoxic pulmonary hypertension; PTBP1/PKM2 signaling pathway; pulmonary arterial smooth muscle cells; glycolysis

DOI:10.19540/j.cnki.cjcm.20251027.302

肺动脉高压(PH)是一种以肺血管阻力及肺动脉压力进行性升高为特点的致死性疾病,肺血管重塑是为其关键病理改变。最新流行病学调查显示,PH患病人数高达全球人口的1%,五年生存率不足60%^[1-2]。低氧性肺动脉高压(HPH)是其第二大常见类型,然而相关靶向药物疗效不确切且伴随严重不良反应,因此临床治疗上国内外指南推荐以家庭氧疗和原发病治疗为主^[3-4]。尽管目前有多种治疗手段应用于PH的临床实践,但针对其复杂发病机制的新型治疗策略仍有待进一步探索和开发,以满足临床治疗中对更有效、更安全治疗方案的迫切需求。

丙酮酸激酶 M2 (PKM2) 是糖酵解关键限速酶——丙酮酸激酶(PK)的常见亚型之一,其催化生成的丙酮酸直接生成乳酸,因而有助于促进大分子生物合成以满足快速增殖细胞的物质需求。多聚嘧啶片段结合蛋白 1(PTBP1)是丙酮酸激酶 M(PKM)前体 mRNA 的特异性剪切分子,可作为 PKM1 mRNA 的选择性剪接阻遏物并导致 PKM2 上调^[5]。研究^[6-8]表明 PTBP1/PKM2 信号轴在肺血管细胞异常增殖和肺血管重塑过程中发挥重要作用,这为深入理解肺血管疾病的发病机制提供了新的视角。

HPH 归于中医“肺胀”范畴,属于本虚标实之证。“本虚”责于心肺气虚,“标实”则为痰饮、瘀血阻滞肺脉,二者互为因果,致使病情缠绵难愈,迁延

不休。本课题组长期深耕于 HPH 的临床防治,秉承着中医整体观念与辨证论治原则,结合经典医籍理论及临床实践经验,研制出君仁补肺益心颗粒(JRBF),该方已获国家专利授权(专利号 ZL 2024 1 0706432.8),具有补益心肺,通脉化饮之功效。该方沿用课题组前经验方“肺心汤”^[9-13],由苓桂术甘汤和葶苈大枣泻肺汤化裁而来,用药更为精简、药性更为平和,兼顾长期用药的安全性及有效性。研究表明,苓桂术甘汤和葶苈大枣泻肺汤在治疗 HPH 患者和肺动脉高压引起的肺源性心脏病患者均体现出显著的临床效果^[14-15]。然其具体作用机制亟待深入研究。故本研究拟采用慢性低氧构建小鼠 HPH 模型,基于 PTBP1/PKM2 通路探究 JRBF 拮抗 HPH 的效用及具体机制,旨在为 HPH 的临床治疗提供新的理论依据与中药治疗策略。

1 材料

1.1 动物 60 只 SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠,6~8 周龄,体质量(23±2)g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,许可证号 SCXK(湘)2019-0004;20 只雄性 SPF 级雄性 SD 大鼠,6~8 周龄,体质量(200±20)g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,许可证号 SCXK(湘)2019-0004,用以制备含药血清。动物饲养于湖南中医药大学动物实验中心,饲养条件 SPF 级,饲养温度(25±2)℃,相对湿度 60%±5%,12 h 光照和 12 h 黑夜交替,按需予以饮食,适应性

喂养3 d后进行后续实验。本研究已获得湖南中医药大学实验动物伦理委员会的批准(批号HNUCM21-2311-22),并严格遵守《实验动物福利伦理审查技术规范》《湖南省实验动物管理条例》《湖南中医药大学实验动物管理办法》。

1.2 细胞系 人原代肺动脉平滑肌细胞(hPASMCs)(货号HUM-iCell-a009),购于赛百慷(上海)生物技术股份有限公司。1~3代细胞使用完全培养基(20%胎牛血清、1%平滑肌细胞补充物和1%青霉素-链霉素溶液的DMEM/F12)培养,3代以后的细胞使用去除平滑肌细胞补充物、胎牛血清比例为10%的完全培养基培养。细胞于37℃、5%CO₂、74% N₂和21% O₂的三气培养箱中培养。

1.3 药物与试剂 JRBF购于湖南中医药大学第一附属医院,由医院龙红萍副研究员鉴定合格,其药物组成为人参9 g,茯苓15 g,白术9 g,桂枝6 g,炙甘草9 g,葶苈子12 g,大枣5 g,桃仁6 g,丹参15 g,法半夏9 g。通过传统水提法浓缩成药液(低、中、高生药质量浓度分别为0.845、1.69、3.38 g·mL⁻¹)冷藏于4℃冰箱备用。枸橼酸西地那非片(国药标准Z10960063,美国辉瑞公司),通过使用蒸馏水溶解成药液(2.5 mg·mL⁻¹)冷藏于4℃冰箱备用。

PTBP1(货号67462-1-Ig)、PKM2(货号60268-1-Ig)、PKM1(货号15821-1-AP)均购自武汉三鹰生物技术有限公司;α-平滑肌肌动蛋白(α-SMA,货号sc53142,美国Santa公司);β-actin[货号T0022,安诺伦(北京)生物科技有限公司];山羊抗小鼠IgG H&L(HRP)(货号ab6789,英国Abcam公司);CCK-8[货号SC119-02,赛文创新(北京)生物科技有限公司];BeyoClick™ EdU-488细胞增殖检测试剂盒(货号C0071S,上海碧云天生物技术有限公司);乳酸测定试剂盒(货号A019-2-1)、总蛋白定量试剂盒(货号A045-2-1)均购自南京建成生物工程研究所有限公司;Annexin V-FITC/PI Apoptosis Kit(货号E-CK-A211,武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司);Gibco胰蛋白酶溶液 Trypsin-EDTA(0.25%)(货号25200072,美国ThermoFisher Scientific公司);PBS缓冲液(1×)(货号PB180327)、胎牛血清(货号164210-50)、DMEM/F12基础培养基(货号PM150312)、青霉素-链霉素溶液(货号PB180120)均购自武汉普诺赛生命科技有限公司;平滑肌细胞生长补充物(货号1152,美国ScienCell公司)。

1.4 仪器 动物低氧箱(型号YCP-160D,长沙华晓电子科技有限公司)、小动物B超机(型号VIN-NO6LAB,苏州飞依诺科技股份有限公司)、小动物麻醉机(型号RWD510,深圳瑞沃德生命科技股份有限公司)、压力感受器(型号FTH-1918B-E118,美国Transonic公司)、多通道电生理记录仪(型号MP160,美国Biopac公司)、正置荧光显微镜(型号DM2500,德国Leica公司)、化学发光仪(型号Tanon-5200,上海天能生命科学有限公司)、多功能微孔板酶标仪(型号Spark,瑞士Tecan公司)。

2 方法

2.1 小鼠HPH模型制备 采用常压间断缺氧法,动态向低氧箱内充入氮气,使舱内氧气浓度维持在10%±0.5%,每日缺氧8 h,持续28 d^[16-17]。

2.2 动物分组及给药 将60只小鼠随机分成正常组、模型组、西地那非组、JRBF低剂量组、JRBF中剂量组、JRBF高剂量组,每组10只。给药剂量根据人体与小鼠体表面积换算公式进行计算:西地那非组小鼠给予0.025 g·kg⁻¹剂量的西地那非药液进行灌胃,君仁补肺益心颗粒低、中、高剂量组小鼠分别给予8.45、16.9、33.8 g·kg⁻¹剂量的JRBF药液进行灌胃,正常组和模型组则给予对应体积的蒸馏水灌胃。上述灌胃操作均在低氧造模前开展,每日定时进行1次,整个给药周期持续28 d。

2.3 JRBF含药血清制备 将20只大鼠随机分成对照组和JRBF组,每组10只。根据人体与大鼠体表面积换算公式,JRBF组大鼠给予35.1 g·kg⁻¹的JRBF药液(相当于临床等效剂量的3倍)灌胃,对照组大鼠则给予等体积蒸馏水灌胃,每日1次,持续7 d。末次给药后的1 h内腹主动脉采血。采集的血液4℃、3 000 r·min⁻¹离心10 min,随后56℃水浴灭活30 min,0.22 μm微孔滤膜过滤、分装,-80℃贮存。

2.4 细胞低氧模型制备及含药血清干预 待细胞贴壁且生长状态良好后,模型组hPASMCs放置于含有1% O₂、5% CO₂和94% N₂的三气培养箱中48 h,对照组细胞则放置于含21% O₂、5% CO₂和74% N₂的三气培养箱中48 h^[18]。对照组和模型组hPASMCs在造模前给予10%空白血清,JRBF干预组则在造模前给予10% JRBF含药血清。

2.5 右心室收缩压检测 采用右心导管法检测小鼠右心室收缩压(RVSP)。调试多导生理仪,肝素

钠生理盐水预冲导管,连接导管与压力感受器并调零。超声心动图检测结束后,将小鼠仰卧位固定于平板上,继续使用2%异氟烷吸入维持麻醉,暴露其右侧颈外静脉,结扎血管远心端,近心端处使用显微剪剪开一“V”形切口,将导丝经颈外静脉缓慢插入至右心室,直至见导管节律性抖动,根据波形微调导管至出现典型的右心室波形并稳定后,用生理记录仪记录实验数据。

2.6 超声心动图指标检测 首先使用4%异氟烷诱导麻醉小鼠,将小鼠以仰卧位固定于平板上,调整异氟烷浓度为2%维持麻醉。暴露小鼠胸部皮肤,使用小动物B超机在胸骨旁短轴切面通过脉冲多普勒成像检测小鼠肺动脉加速时间(PAAT)和肺射血时间(PET),在心尖四腔切面使用M型彩超检测三尖瓣环收缩期位移(TAPSE),在右心室短轴切面使用M型彩超检测舒张期右心室前壁厚度(RVAWd)。

2.7 组织病理学检测 小鼠脱颈处死后,分离其心脏和肺组织,使用4%多聚甲醛固定24 h后,进行脱水处理、石蜡包埋、切片处理,随后进行苏木素-伊红(HE)和Masson染色,在光学显微镜下($\times 400$)观察肺小动脉(直径50~100 μm)病理改变、心肌纤维细胞面积和胶原沉积情况。使用ImageJ软件进行测量和计算:WT% = $2 \times \text{内壁厚度} / \text{血管直径} \times 100\%$;右心室壁间质纤维化程度 = $\text{蓝色胶原沉积面积} / \text{红色心肌纤维面积} \times 100\%$ 。

2.8 Western blot 检测 取冻存的小鼠肺组织或收集细胞,使用适量的RIPA裂解液进行裂解,4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心15 min,获得的上清液即为蛋白溶液,通过BCA法测定蛋白浓度。SDS-PAGE电泳,转膜,5%脱脂牛奶室温封闭1 h,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育PT-BP1(1:40 000)、PKM2(1:2 000)、PKM1(1:2 000)、 β -actin(1:10 000)过夜,再予以兔抗或鼠抗(1:10 000)室温孵育1 h。结束后使用ECL发光液进行显影,ImageJ分析条带灰度值。

2.9 免疫荧光检测 取小鼠肺组织石蜡块,依次行切片、脱蜡水化、抗原修复、洗涤及封闭处理。处理完成后,加入 α -SMA(1:200)与PTBP1(1:500)抗体的稀释液,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。孵育结束后,用PBST洗涤3次,再加入FITC和Cy3标记的荧光二抗,室温孵育1 h后,再次用PBST洗涤3次,随后以DAPI复染细胞核。最后,滴加抗荧光淬灭封片剂,待其晾

干后,置于显微镜下观察。

2.10 乳酸含量检测 称量肺组织样本,以质量-体积1:9加入0.9%的氯化钠溶液,冰水浴机械匀浆,4 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心10 min后取上清液,或取细胞培养液为待测样本。通过预实验选取最适宜的稀释倍数:组织样本为1倍,血清样本为5倍,细胞培养液样本为2倍。使用总蛋白(TP)定量测定试剂盒,依照说明书操作步骤测定肺组织匀浆液的蛋白浓度。对于乳酸含量测定,严格按照试剂盒说明书,向各反应管中依次加入蒸馏水、对照品、待测样本、酶工作液及显色剂,充分混匀后,置于37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中精确反应10 min,随后加入终止液。反应结束后,吸取各反应管中200 μL 反应液,转移至96孔板,使用酶标仪在530 nm波长处读取吸光度。待测样本蛋白浓度($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) = $(A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times \text{标准液浓度}$ ($0.524 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) $\times$ 样本测试前稀释倍数(10);血清乳酸含量($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) = $(A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times \text{标准品浓度}$ ($3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) $\times$ 样本测试前稀释倍数(5);组织乳酸含量($\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$) = $(A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times \text{标准品浓度}$ ($3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) / 匀浆液蛋白浓度。

2.11 CCK-8 检测 将hPASCs按3 000个/孔的密度均匀接种至96孔板,待细胞贴壁后饥饿24 h,以实现细胞周期同步化。药物干预组分别给予5%、10%、15%、20%、25%含药血清或空白血清,常氧(21% O_2)或低氧(1% O_2)培养48 h后加入CCK-8试剂孵育2 h,酶标仪测定各孔吸光度,并计算细胞活力。细胞活力 = $(A_{\text{加药}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times 100\%$ 。

2.12 EdU 检测 将hPASCs按20 000个/孔的密度均匀接种至24孔板,待细胞贴壁后饥饿24 h。将细胞分为对照组、模型组和10% JRBF组。各组细胞培养48 h后加入EdU试剂孵育2 h,随后固定、通透,按照BeyoClick™EdU-488细胞增殖检测试剂盒说明书配制检测液,按需加入24孔板细胞中,避光孵育30 min,Hoechst 33342溶液避光孵育15 min复染细胞核,最后使用正置荧光显微镜拍照。

2.13 Transwell 检测 将状态良好的贴壁hPASCs饥饿24 h,使用胰酶消化细胞并计数,以10 000个/孔的密度均匀接种至孔径为8 μm 的24孔Transwell小室中,将细胞分为对照组、模型组和10% JRBF组,分组干预后使用4%多聚甲醛固定细胞、0.1%结晶紫溶液对小室下表面细胞进行染色,

最后在光学显微镜下观察迁移细胞。

2.14 数据统计分析 使用 GraphPad Prism 10.1 软件进行数据统计分析。实验数据均使用($\bar{x} \pm s$)表示,多组数据采用单因素方差分析进行组间比较,并通过 LSD 检验进行组间的两两比较, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 对小鼠右心室 RVSP 的影响 与正常组相比,模型组小鼠的 RVSP 显著升高($P < 0.01$)。与模型组相比,JRBF-L 组小鼠的 RVSP 稍降低,但无显著差异;而西地那非组、JRBF-M 组和 JRBF-H 组均显著降低($P < 0.01$)。其中 JRBF-M 组和 JRBF-H 组的 RVSP 无显著差异,见表 1。

表 1 JRBF 对各组小鼠 RVSP 的影响($\bar{x} \pm s, n = 4$)

Table 1 Effect of JRBF on RVSP of the mice in each group($\bar{x} \pm s, n = 4$)

组别	RVSP/mm Hg
正常	23.22 ± 1.34
模型	39.24 ± 2.32 ¹⁾
西地那非	25.22 ± 3.25 ²⁾
JRBF-L	33.15 ± 3.58
JRBF-M	27.21 ± 1.21 ²⁾
JRBF-H	23.86 ± 0.51 ²⁾

注:JRBF. 君仁补肺益心颗粒;L. 低剂量组;M. 中剂量组;H. 高剂量组(图 1~5 同)。与正常组比¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比²⁾ $P < 0.01$,³⁾ $P < 0.05$ (表 2~6 同)。1 mm Hg ≈ 0.133 kPa。

3.2 对小鼠超声心动图指标的影响 与正常组相比,模型组小鼠的 PAT/PET 和 TAPSE 显著减低($P < 0.01$),RVAWd 显著升高($P < 0.01$)。与模型组相比,给予西地那非和低、中、高剂量浓度的 JRBF 均可不同程度升高小鼠的 PAT/PET 和 TAPSE($P < 0.01, P < 0.05$),并降低 RVAWd($P < 0.01, P < 0.05$)。其中 JRBF-L 虽可升高造模小鼠的 TAPSE,但较模型组无显著差异。此外,JRBF-M 和 JRBF-H 组小鼠的 PAT/PET、RVAWd 和 TAPSE 无显著差异,见表 2。

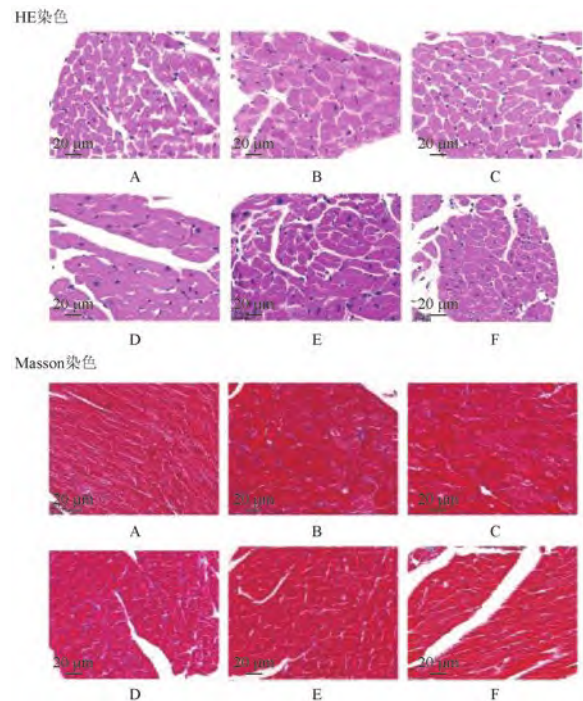
3.3 对小鼠右心室病理改变的影响 与正常组相比,模型组小鼠右室壁心肌细胞横截面面积显著升高($P < 0.01$),间质胶原蛋白沉积显著增多($P < 0.01$);各用药组可分别不同程度缓解低氧诱导的心肌细胞肥大($P < 0.01$)和心肌纤维化($P < 0.01$)。

表 2 JRBF 对各组小鼠超声心动图指标的影响($\bar{x} \pm s, n = 4$)

Table 2 Effects of JRBF on echocardiographic indexes of the mice in each group($\bar{x} \pm s, n = 4$)

组别	PAT/PET	RVAWd/mm	TAPSE/mm
正常	0.346 ± 0.013	0.213 ± 0.017	1.699 ± 0.036
模型	0.227 ± 0.002 ¹⁾	0.518 ± 0.018 ¹⁾	1.209 ± 0.038 ¹⁾
西地那非	0.341 ± 0.017 ²⁾	0.321 ± 0.024 ²⁾	1.387 ± 0.047 ²⁾
JRBF-L	0.274 ± 0.012 ²⁾	0.460 ± 0.003 ³⁾	1.301 ± 0.015
JRBF-M	0.346 ± 0.007 ²⁾	0.284 ± 0.023 ²⁾	1.419 ± 0.035 ²⁾
JRBF-H	0.316 ± 0.010 ²⁾	0.260 ± 0.003 ²⁾	1.464 ± 0.046 ²⁾

其中 JRBF-L 组的小鼠右室壁心肌细胞横截面面积和间质胶原蛋白沉积有所下降,但较模型组无显著差异。此外,JRBF-M 和 JRBF-H 组作用效果显著,且 2 组之间无显著差异,见图 1、表 3。



A. 正常组;B. 模型组;C. 西地那非组;D. JRBF-L 组;E. JRBF-M 组;F. JRBF-H 组(图 2、3 同)。

图 1 JRBF 对各组小鼠心脏病理改变的影响

Fig. 1 Effects of JRBF on pathological changes in the cardiac tissue of the mice in each group

3.4 对小鼠肺血管重塑的影响 为评估缺氧以及药物对小鼠肺远端肺小动脉病理改变,本研究针对直径 50~100 μm 的远端肺小动脉进行检测分析,见图 2、表 4。与正常组相比,模型组小鼠肺小动脉 WT% 显著升高($P < 0.01$);与模型组相比,各用药组均能不同程度缓解低氧诱导的 WT% 增加($P < 0.01$,

表 3 JRBF 对各组小鼠心脏病理改变的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)Table 3 Effects of JRBF on pathological changes in the cardiac tissue of the mice in each group($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	右心室横截面积/ mm^2	右心室间质纤维化/%
正常	168.8 $\pm$ 16.12	2.2 $\pm$ 0.127
模型	295.2 $\pm$ 28.93 ¹⁾	4.1 $\pm$ 0.169 ¹⁾
西地那非	217.5 $\pm$ 13.01 ²⁾	2.6 $\pm$ 0.199 ²⁾
JRBF-L	262.3 $\pm$ 20.43	3.9 $\pm$ 0.486
JRBF-M	198.0 $\pm$ 17.45 ²⁾	2.8 $\pm$ 0.396 ²⁾
JRBF-H	187.7 $\pm$ 25.14 ²⁾	2.4 $\pm$ 0.402 ²⁾

$P<0.05$)。其中 JRBF-M 和 JRBF-H 组作用效果优于低剂量组($P<0.01$),且 2 组之间无显著差异。

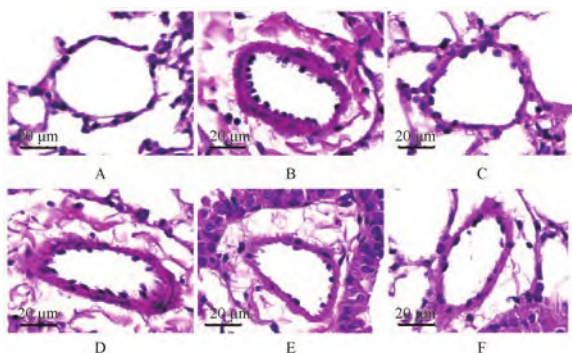


图 2 JRBF 对各组小鼠肺小血管病理改变的影响(HE 染色)

Fig. 2 Effects of JRBF on pathological alterations in the pulmonary arterioles of the mice in each group (HE staining)

3.5 对小鼠肺组织和 PASMCs 中 PTBP1、PKM2 和 PKM1 表达的影响

与正常组相比,模型组小鼠肺

表 4 JRBF 对各组小鼠肺小血管病理改变的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)Table 4 Effects of JRBF on pathological alterations in the pulmonary arterioles of the mice in each group ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	WT%/%
正常	20.06 $\pm$ 0.76
模型	42.57 $\pm$ 2.22 ¹⁾
西地那非	25.25 $\pm$ 2.46 ²⁾
JRBF-L	35.05 $\pm$ 0.54 ³⁾
JRBF-M	27.08 $\pm$ 1.88 ²⁾
JRBF-H	24.62 $\pm$ 0.46 ²⁾

组织中 PTBP1 和 PKM2 蛋白表达量显著升高($P<0.01$);中、高剂量的 JRBF 组小鼠肺组织中 PTBP1 和 PKM2 蛋白表达量较模型组均显著降低($P<0.01, P<0.05$),且 2 组之间无显著差异;而 JRBF-L 组小鼠肺组织中 PTBP1 和 PKM2 蛋白表达量与模型组无差异。与此同时,各组之间 PKM1 蛋白表达量均无显著差异。有趣的是,不同组小鼠肺组织中 PKM2/PKM1 的比值表现出不同;与正常组小鼠相比,低氧可诱导肺组织中 PKM2/PKM1 的比值显著升高($P<0.01$),中、高剂量的 JRBF 可有效降低低氧诱导的 PKM2/PKM1 的比值升高($P<0.01$),且 2 组的逆转效果无显著差异,而 JRBF-L 组其比值较模型组有所下降但无显著差异。此外,不同组小鼠肺组织切片的免疫荧光图像提示 PTBP1 在低氧诱导的模型小鼠肺组织切片的 PASMCs 中具有明显富集,而不同浓度的 JRBF 可降低其表达,见图 3、表 5。

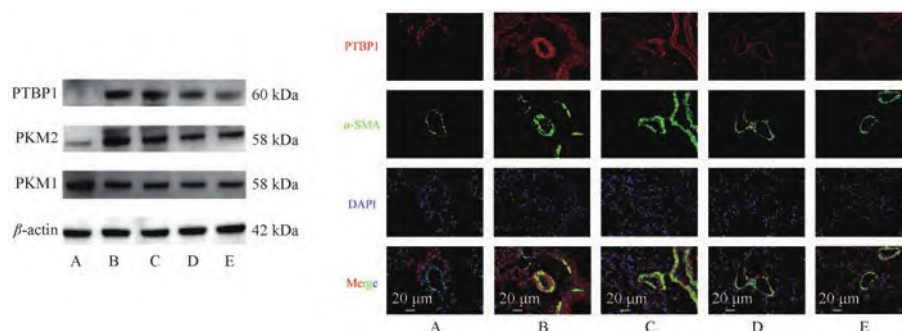


图 3 JRBF 对各组小鼠肺组织和 PASMCs 中 PTBP1、PKM2 和 PKM1 表达的影响(免疫荧光)

Fig. 3 Effects of JRBF on the expression of PTBP1, PKM2, and PKM1 in the lung tissue and PASMCs of the mice in each group (immunofluorescence)

3.6 对小鼠肺组织和血清乳酸含量的影响

与正常对照组相比,模型组小鼠的肺组织匀浆和血清中乳酸含量显著升高($P<0.01$),中、高剂量 JRBF 干

预可明显降低肺组织和血清中乳酸含量($P<0.01$),然而低剂量 JRBF 干预可有效减少低氧诱导的小鼠肺组织中乳酸含量的升高($P<0.01$),但对血清中的

表 5 JRBF 对各组小鼠肺组织中 PTBP1、PKM2 和 PKM1 表达的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 5 Effects of JRBF on the expression of PTBP1, PKM2, and PKM1 in the lung tissue of the mice in each group($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	PTBP1/ β -actin	PKM2/ β -actin	PKM1/ β -actin	PKM2/PKM1
正常	0.308 $\pm$ 0.097	0.303 $\pm$ 0.180	1.108 $\pm$ 0.038	0.273 $\pm$ 0.146
模型	1.163 $\pm$ 0.164 ¹⁾	1.127 $\pm$ 0.132 ¹⁾	1.082 $\pm$ 0.199	1.117 $\pm$ 0.229 ¹⁾
JRBF-L	1.161 $\pm$ 0.801	1.040 $\pm$ 0.079	1.039 $\pm$ 0.201	0.990 $\pm$ 0.200
JRBF-M	0.782 $\pm$ 0.148 ²⁾	0.694 $\pm$ 0.110 ³⁾	1.050 $\pm$ 0.177	0.756 $\pm$ 0.219 ³⁾
JRBF-H	0.736 $\pm$ 0.177 ³⁾	0.601 $\pm$ 0.126 ³⁾	0.803 $\pm$ 0.157	0.677 $\pm$ 0.152 ³⁾

乳酸含量无明显影响,见表 6。

表 6 JRBF 对各组小鼠肺组织和血清乳酸含量的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 6 Effects of JRBF on the lactate content in the lung tissue and serum of the mice in each group($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	肺组织乳酸/ $\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$	血清乳酸/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$
正常	0.549 $\pm$ 0.071	3.625 $\pm$ 0.056
模型	1.102 $\pm$ 0.021 ¹⁾	7.407 $\pm$ 0.243 ¹⁾
JRBF-L	0.814 $\pm$ 0.078 ²⁾	7.016 $\pm$ 0.209
JRBF-M	0.682 $\pm$ 0.014 ²⁾	4.096 $\pm$ 0.084 ²⁾
JRBF-H	0.676 $\pm$ 0.003 ²⁾	5.770 $\pm$ 0.099 ²⁾

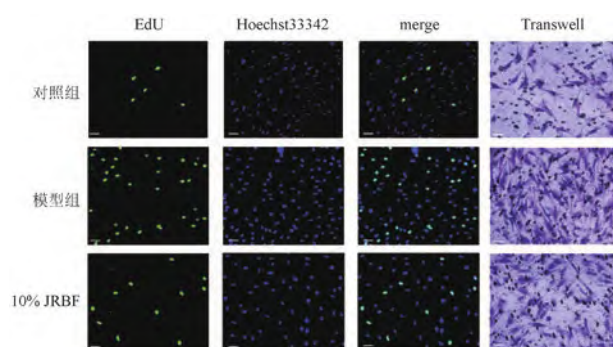
3.7 对 hPASCs 表型的影响 研究报道,低氧可显著诱导 PASCs 增殖、迁移能力增强,抗凋亡能力减弱,从而导致 PASCs 癌症样表型^[18-20]。为进一步探究 JRBF 通过改善 PASCs 增殖、迁移能力以拮抗低氧诱导的肺血管重塑,本研究以人肺动脉平滑肌细胞为研究对象进行体外实验验证。通过 CCK8 检测不同浓度 JRBF 含药血清对低氧诱导的 hPASCs 存活率的影响,见表 7。结果显示,与常氧组相比,5%、10%、15%、20%和 25%的空白血清对细胞存活率无显著影响,而低氧可显著诱导 hPASCs 存活率升高($P < 0.001$),5%、10%、15%、20%的 JRBF 含药血清可不同程度降低细胞的存活率,其中 10%和 15%JRBF 含药血清抑制增殖效果最为显著($P < 0.001$),且二者之间无显著差异。因此,后续实验中选择 10%作为 JRBF 含药血清的干预浓度。与对照组相比,低氧可显著诱导 hPASCs 增殖和迁移($P < 0.01$),而 JRBF 含药血清干预可减弱低氧诱导的 hPASCs 增殖和迁移能力增强($P < 0.05, P < 0.01$),见图 4、表 8。

3.8 对 hPASCs 中 PTBP1、PKM2、PKM1 表达的影响 低氧可诱导 hPASCs 中 PTBP1、PKM2 表达显著升高($P < 0.01$),而对 PKM1 的表达无显著影

表 7 JRBF 含药血清对 hPASCs 存活率的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 7 Effect of JRBF-containing serum on the viability of hPASCs($\bar{x} \pm s, n=3$) %

JRBF 含药血清	存活率	
	常氧组	低氧组
0	100.00 $\pm$ 3.000	137.4 $\pm$ 3.286 ¹⁾
5	95.60 $\pm$ 2.302	129.6 $\pm$ 2.793 ²⁾
10	96.80 $\pm$ 2.280	117.2 $\pm$ 3.564 ³⁾
15	95.60 $\pm$ 1.140	120.2 $\pm$ 0.837 ³⁾
20	96.80 $\pm$ 3.633	128.0 $\pm$ 1.414 ²⁾
25	98.80 $\pm$ 1.643	131.8 $\pm$ 2.754

注:与常氧空白血清组比¹⁾ $P < 0.001$;与低氧空白血清组比²⁾ $P < 0.001$ 。



标尺 50 μm 。

图 4 JRBF 含药血清对 hPASCs 增殖、迁移的影响

Fig. 4 Effects of JRBF-containing serum on the proliferation and migration of hPASCs

表 8 JRBF 含药血清对 hPASCs 增殖、迁移的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 8 Effects of JRBF-containing serum on the proliferation and migration of hPASCs($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	EdU 阳性率/%	迁移细胞数/个
对照	0.087 $\pm$ 0.017	64.67 $\pm$ 10.69
模型	0.243 $\pm$ 0.032 ¹⁾	119.00 $\pm$ 10.00 ¹⁾
10% JRBF	0.171 $\pm$ 0.015 ²⁾	76.00 $\pm$ 12.53 ³⁾

注:与对照组比¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比²⁾ $P < 0.01$,³⁾ $P < 0.05$ (表 9~10 同)。

响;给予 10% JRBF 含药血清干预后, hPASCs 中 PTBP1 和 PKM2 表达显著降低 ($P<0.01$, $P<0.05$), 且 PKM1 表达无改变。此外, 缺氧可诱导 hPASCs 中 PKM2/PKM1 升高 ($P<0.01$), 而 JRBFF 干预可部分逆转低氧引起的 PKM2/PKM1 升高 ($P<0.01$), 见图 5、表 9。

3.9 对 hPASCs 乳酸生成的影响 对 hPASCs 乳酸生成进行测定, 见表 10。与对照组相比, 低氧诱导细胞乳酸生成增加 ($P<0.01$), 而 10% JRBFF 含药血清干预后, 低氧诱导的乳酸生成增加可被部分消除 ($P<0.01$)。

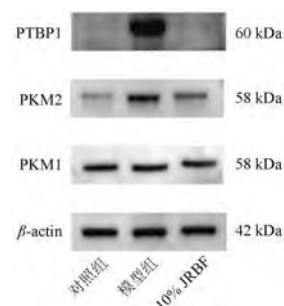


图 5 JRBFF 含药血清对 hPASCs 中 PTBP1、PKM2、PKM1 表达的影响

Fig. 5 Effects of JRBFF-containing serum on the expression of PTBP1, PKM2, and PKM1 in hPASCs

表 9 JRBFF 含药血清对 hPASCs 中 PTBP1、PKM2 和 PKM1 表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Table 9 Effects of JRBFF-containing serum on the expression of PTBP1, PKM2, and PKM1 in hPASCs ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	PTBP1/ β -actin	PKM2/ β -actin	PKM1/ β -actin	PKM2/PKM1
对照	0.314 $\pm$ 0.155	0.481 $\pm$ 0.174	0.991 $\pm$ 0.155	0.495 $\pm$ 0.179
模型	1.175 $\pm$ 0.089 ¹⁾	1.201 $\pm$ 0.236 ¹⁾	0.909 $\pm$ 0.097	1.388 $\pm$ 0.297 ¹⁾
10% JRBFF	0.397 $\pm$ 0.166 ²⁾	0.829 $\pm$ 0.116 ³⁾	0.870 $\pm$ 0.111	0.964 $\pm$ 0.157 ²⁾

表 10 JRBFF 含药血清对 hPASCs 乳酸生成影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Table 10 Effect of JRBFF-containing serum on the lactate production in hPASCs ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	培养液乳酸/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$
对照	1.842 $\pm$ 0.006
模型	3.107 $\pm$ 0.028 ¹⁾
10% JRBFF	2.023 $\pm$ 0.011 ²⁾

4 讨论

HPH 是一种由于缺氧环境引发的远端肺小动脉进行性闭塞的严重肺血管疾病, 临床表现为呼吸困难、活动后加重, 乏力, 胸痛, 水肿等, 疾病进展可致右心衰竭甚至死亡。HPH 作为一种进行性疾病, 具有高发病率、高致死率、预后差的特点^[1-2], 近来中医药在其治疗中展现出独特的治疗优势, 有望成为综合治疗的中药组成部分。中医根据其临床症状特征将其归属于“肺胀”范畴。《灵枢·胀论》概括其病机为“虚满而喘咳”, “虚”则责之心肺气虚、宗气亏虚, “满”则因其邪实壅滞肺络, 肺气宣肃不彻, 郁滞于内, 清气不濡, 故“喘咳”。肺心汤是本课题组治疗 HPH 的经验方, 前期临床研究结果提示其可有效改善患者临床症状、血液状态^[21-22], 动物实验研究证实其可通过抑制肺血管炎症、改善肺动脉线粒体损伤等途径有效缓解 HPH 模型大鼠的右心室及肺血管重塑^[9-13]。君仁补肺益心颗粒以肺心汤为基础

方, 以人参为君药, 改制附子为桂枝, 去麦冬、知母滋阴润燥之品, 用药更加精简, 药性更为平和, 临床治疗 HPH 取得良好效果。方中人参、白术甘温, 共用补益心脾肺气, 共为君药; 桂枝入心, 温通心阳, 使心脉通畅, 以防瘀滞, 则心气畅, 惊悸定; 葶苈子入肺, 泻浊气, 开结利水, 使肺气通降, 痰水俱下, 则喘咳平, 肿可退, 此二者共为臣药; 佐以法半夏燥湿化痰, 茯苓渗湿健脾, 炙甘草助心火而健脾益气, 大枣甘温安中而缓和药力, 使祛邪而不伤正, 共奏补益心肺, 通脉化饮之功效。现代药理研究表明方中君药人参的主要成分人参皂苷 Rg₁ 可有效抑制内皮细胞向间质细胞转化和炎症, 或通过调节线粒体自噬改善缺氧性肺血管内皮功能障碍, 从而改善低氧诱导的肺动脉高压^[23-24]。此外, 方中丹参的有效提取成分丹参酮 II_A 被证实对 HPH 肺动脉重塑具有拮抗作用, 其可能分子机制涉及抑制大鼠 PASCs 的炎症反应、恢复细胞内钙稳态, 从而发挥其对细胞的促凋亡、抑增殖作用^[25-26]。

肺血管重塑是 HPH 的关键病理特征。本研究采用每日 8 h、连续 28 d 常压低氧方式构建小鼠 HPH 模型, 并观察 JRBFF 预防性用药对小鼠心肺血流动力学、肺血管和右心室重塑的影响。与对照组相比, 模型组小鼠右心室收缩压升高, 肺动脉加速时间/肺射血时间、三尖瓣环收缩期位移降低, 右心室

壁厚度升高,肺远端小动脉(直径 50~100 μm)管壁增厚,右心室心肌细胞肥大、胶原蛋白沉积显著,提示模型构建成功。而不同剂量浓度的 JRBF 预防性干预后,各组小鼠出现不同程度的拮抗 HPH 进展作用。提示 JRBF 对 HPH 模型小鼠具有客观的防治效果,可明显改善血流动力学、缓解肺血管重塑、延缓右心功能障碍,其中中剂量和高剂量组的疗效显著优于低剂量组,且中、高剂量组之间疗效相当。

PASMCs 的异常增殖、迁移在 HPH 的病理变化中起关键作用^[27]。本研究结果表明 JRBF 可显著减少低氧诱导的 hPASMCs 增殖、迁移,提示 JRBF 可能通过有效改善 PASMCs 的异常表型,从而发挥阻逆肺血管重塑的作用。HPH 的病理涉及 PASMCs 增殖与死亡失衡,从而表现出“准肿瘤”性质。为满足异常增殖细胞的能量和生物合成需求,细胞的代谢方式不可避免将发生改变。1942 年, Otto Warburg 提出无论氧气水平如何,癌细胞都倾向于利用葡萄糖通过糖酵解产生 ATP^[28],这种现象被称为“瓦尔堡效应”。后国内外研究者证实了这种向糖酵解转变的代谢方式通过支持 PASMCs 增殖促进肺血管重塑,与 PH 的发生发展密切相关^[29-30]。PK 催化糖酵解中最后一个不可逆的步骤,在哺乳动物中由 2 个基因编码 4 种同工酶,其中 PKM 基因通过相互排斥的外显子选择性剪接编码 PKM1 和 PKM2。有研究认为 PKM1 介导氧化磷酸化,PKM2 介导糖酵解,PKM2 的表达升高满足细胞增殖代谢的要求,因此其在快速增殖的细胞(包括异常增殖的 PASMCs)中普遍高表达^[8,31-33]。因此 PKM2 表达升高或 PKM2/PKM1 比值升高对于维持细胞快速增殖至关重要。研究表明,PTBP1 依赖性剪接介导的 PKM2 表达上调、PKM2/PKM1 比值升高通过影响糖酵解过程促进大鼠 PASMCs 异常增殖^[8]。这揭示了 PTBP1/PKM2 信号轴可能是临床治疗 HPH 的潜在靶点。本研究结果提示, JRBF 预防性干预后,小鼠肺组织、血清以及 hPASMCs 培养液中乳酸含量显著下调,肺小动脉中平滑肌细胞标志蛋白 $\alpha\text{-SMA}$ 与 PTBP1 的共定位表达下降,肺组织中 PTBP1 和 PKM2 的蛋白表达水平减少;体外实验结果同样表明 JRBF 含药血清可部分通过逆转低氧诱导的 PTBP1、PKM2 和 PKM2/PKM1 升高从而逆转 hPASMCs 异常增殖和迁移表型。以上结果表明 JRBF 可抑制 PASMCs 糖酵解,从而拮抗 PASMCs 异常增殖,其机制可能与

JRBF 调控 PTBP1/PKM2 信号轴相关。

5 结论

本研究表明 JRBF 可以通过抑制 PTBP1/PKM2 信号轴,下调 PTBP1、PKM2 的表达,同时对 PKM1 的表达无影响,从而降低 PKM2/PKM1 比值,逆转低氧诱导的 PASMCs 的糖代谢重编程和表型转化,最终发挥拮抗 HPH 发生发展的作用。这一发现证实了 JRBF 可通过纠正糖酵解通量异常阻逆 HPH 的进程,为 PH 的代谢干预提供了新思路和新方法。

【参考文献】

- [1] HOEPER M M, HUMBERT M, SOUZA R, et al. A global view of pulmonary hypertension[J]. *Lancet Resp Med*, 2016, 4(4): 306.
- [2] MOCUMBI A, HUMBERT M, SAXENA A, et al. Pulmonary hypertension[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2024, 10(1): 1.
- [3] 中华医学会呼吸病学分会肺栓塞与肺血管病学组,中国医师协会呼吸医师分会肺栓塞与肺血管病工作委员会,全国肺栓塞与肺血管病防治协作组,等. 中国肺动脉高压诊断与治疗指南(2021 版)[J]. *中华医学杂志*, 2021, 101(1): 11.
- [4] HUMBERT M, KOVACS G, HOEPER M M, et al. 2022 ESC/ERS guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension[J]. *Eur Heart J*, 2022, 43(38): 3618.
- [5] ZHANG Z, DENG X, LIU Y, et al. PKM2, function and expression and regulation[J]. *Cell Biosci*, 2019, 9: 52.
- [6] CHEN M, DAVID C J, MANLEY J L. Concentration-dependent control of pyruvate kinase M mutually exclusive splicing by hnRNP proteins[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2012, 19(3): 346.
- [7] CARUSO P, DUNMORE B J, SCHLOSSER K, et al. Identification of microRNA-124 as a major regulator of enhanced endothelial cell glycolysis in pulmonary arterial hypertension via PTBP1 (polypyrimidine tract binding protein) and pyruvate kinase M2[J]. *Circulation*, 2017, 136(25): 2451.
- [8] LU G F, GENG F, DENG L P, et al. Reduced circSMOC1 level promotes metabolic reprogramming via PTBP1 (polypyrimidine tract-binding protein) and miR-329-3p in pulmonary arterial hypertension rats[J]. *Hypertension*, 2022, 79(11): 2465.
- [9] 谭骏岚,曹闲雅,郑润锈,等. 基于 PPAR γ /NF- κ B/NLRP3 信号通路探讨肺心汤调控 PASMCs 焦亡治疗低氧性肺动脉高压机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2025, 31(18): 1.
- [10] 谭骏岚,曹闲雅,郑润锈,等. 肺心汤通过调控 NF- κ B/NLRP3 通路抑制肺动脉平滑肌细胞焦亡而缓解小鼠低氧性肺动脉高压[J]. *中国病理生理杂志*, 2025, 41(1): 36.
- [11] 丁蓉珍,谢海平,张超,等. 肺心汤通过 RELM- β /DRP1 信号通路调控线粒体损伤改善低氧性肺动脉高压的作用及机制[J]. *时珍国医国药*, 2024, 35(15): 3348.
- [12] 张超,易健,丁蓉珍,等. 肺心汤通过调控 AMPK/mTOR 信号通路抑制自噬对低氧性肺动脉高压大鼠的保护作用[J]. *湖南中医药大学学报*, 2024, 44(5): 744.

- [13] 谭骏岚, 易健, 曹闲雅, 等. 基于 PPAR- γ /NF- κ B 信号通路探讨肺心汤对野百合碱诱导肺动脉高压大鼠模型的作用及机制[J]. 中药新药与临床药理, 2024, 35(3): 307.
- [14] 贺生成. 葶苈大枣泻肺汤在肺心病急性发作期的临床应用体会[J]. 青海医药杂志, 2022, 52(1): 58.
- [15] 杨丽丽, 张正义, 姜华, 等. 苓桂术甘汤治疗低氧性肺动脉高压的临床疗效研究[J]. 中国全科医学, 2016, 19(28): 3495.
- [16] LI C, LIU P, ZHU H, et al. T follicular helper cell is essential for M2 macrophage polarization and pulmonary vascular remodeling in hypoxia-induced pulmonary hypertension[J]. Respir Res, 2024, 25(1): 428.
- [17] 周灵灵, 王飞英, 易健, 等. 超声心动图评估低氧性肺动脉高压小鼠模型右心室收缩压[J]. 中国医学影像技术, 2024, 40(6): 825.
- [18] LI Y, WEI X, XIAO R, et al. SMYD2-methylated PPAR γ facilitates hypoxia-induced pulmonary hypertension by activating mitophagy[J]. Circ Res, 2024, 135(1): 93.
- [19] TAN J, CAO X, ZHENG R, et al. Celastrol ameliorates hypoxia-induced pulmonary hypertension by regulation of the PDE5-cGMP-PKG signaling pathway[J]. Phytother Res, 2025, 39(3): 1549.
- [20] MASSON B, LE RIBEUZ H, SABOURIN J, et al. Orail inhibitors as potential treatments for pulmonary arterial hypertension[J]. Circ Res, 2022, 131(9): e102.
- [21] 黄艳, 戴爱国, 刘鑫. 肺心汤治疗肺心病急性发作期的临床观察[J]. 南华大学学报(医学版), 2006(1): 54.
- [22] 顾娅菲, 范咏梅, 戴爱国, 等. 肺心汤对慢性肺心病患者一氧化氮、内皮素及肾上腺髓质素的影响[J]. 南华大学学报(医学版), 2002(3): 240.
- [23] TANG B L, LIU Y, ZHANG J L, et al. Ginsenoside Rg₁ ameliorates hypoxia-induced pulmonary arterial hypertension by inhibiting endothelial-to-mesenchymal transition and inflammation by regulating CCN1[J]. Biomed Pharmacother, 2023, 164: 114920.
- [24] ZHANG R, LU M, RAN C, et al. Ginsenoside Rg₁ improves hypoxia-induced pulmonary vascular endothelial dysfunction through TXNIP/NLRP3 pathway-modulated mitophagy[J]. J Ginseng Res, 2025, 49(1): 80.
- [25] JIANG Q, LU W, YANG K, et al. Sodium tanshinone II_A sulfonate inhibits hypoxia-induced enhancement of SOCE in pulmonary arterial smooth muscle cells via the PKG-PPAR- γ signaling axis[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2016, 311(1): C136.
- [26] BAO Y R, CHEN J W, JIANG Y, et al. Sodium tanshinone II sulfonate ameliorates hypoxia-induced pulmonary hypertension[J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 687.
- [27] HASSOUN P M. Pulmonary arterial hypertension[J]. N Engl J Med, 2021, 385(25): 2361.
- [28] WARBURG O. On the origin of cancer cells[J]. Science, 1956, 123(3191): 309.
- [29] KOVACS L, CAO Y, HAN W, et al. PFKFB3 in smooth muscle promotes vascular remodeling in pulmonary arterial hypertension[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2019, 200(5): 617.
- [30] CHEN J, ZHANG M, LIU Y, et al. Histone lactylation driven by mROS-mediated glycolytic shift promotes hypoxic pulmonary hypertension[J]. J Mol Cell Biol, 2023, 14(12): mjac073.
- [31] DAYTON T L, JACKS T, VANDER HEIDEN M G. PKM2, cancer metabolism, and the road ahead[J]. EMBO Rep, 2016, 17(12): 1721.
- [32] LI W, CHEN W, PENG H, et al. Shikonin improves pulmonary vascular remodeling in monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension via regulation of PKM2[J]. Mol Med Rep, 2023, 27(3): 60.
- [33] ZHU Y, SHU D, GONG X, et al. Platelet-derived TGF (transforming growth factor)- β 1 enhances the aerobic glycolysis of pulmonary arterial smooth muscle cells by PKM2 (pyruvate kinase muscle isoform 2) upregulation[J]. Hypertension, 2022, 79(5): 932.

[责任编辑 孔晶晶]