

人参总次苷对心肌细胞肥大性改变的改善作用及机制[△]

李彬^{1,2*}, 李佳¹, 袁中杰¹, 朱明军^{1#}, 谢世阳¹, 高原¹, 于瑞¹, 王新陆¹(1. 河南中医药大学第一附属医院心脏中心, 郑州 450099; 2. 河南省中医药循证医学中心, 郑州 450099)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2025)12-1430-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2025.12.03



摘要 目的 探讨人参总次苷(TSG)对血管紧张素Ⅱ(AngⅡ)诱导原代心肌细胞肥大性改变的改善作用及潜在机制。方法 从新生SD乳鼠心脏中分离原代心肌细胞,将其分为对照组、AngⅡ组(2 μmol/L)、TSG组(7.5 μg/mL)、PFK-015组[6-磷酸果糖-2-激酶/果糖-2,6-二磷酸酶3(PFKFB3)抑制剂10 nmol/L]和TSG+PFK-015组(TSG 7.5 μg/mL+PFK-015 10 nmol/L),检测各组细胞表面积、蛋白合成情况、能量代谢相关指标[游离脂肪酸(FFA)、辅酶A(CoA)、乙酰辅酶A(acetyl-CoA)]含量、糖酵解相关因子[缺氧诱导因子1α(HIF-1α)、葡萄糖转运蛋白4(GLUT-4)、乳酸脱氢酶A(LDHA)、丙酮酸脱氢酶激酶1(PDK1)、PFKFB3]的表达情况。结果 与对照组相比,AngⅡ组细胞表面积显著增大,蛋白合成显著增多,FFA含量和HIF-1α、LDHA、PDK1、PFKFB3蛋白及mRNA的表达均显著升高或上调,CoA、acetyl-CoA含量和GLUT-4蛋白及mRNA的表达均显著降低或下调($P<0.05$)。与AngⅡ组相比,TSG组和PFK-015组细胞上述指标均显著改善,且TSG+PFK-015组细胞的改善程度普遍优于TSG组和PFK-015组($P<0.05$)。结论 TSG可缩小AngⅡ诱导原代心肌细胞的表面积,减少蛋白合成,抑制其肥大性改变;上述作用可能与改善细胞能量代谢、抑制糖酵解活动有关。

关键词 人参总次苷;心力衰竭;心肌细胞;肥大性改变;能量代谢;糖酵解

Improvement effects and mechanism of total secondary ginsenosides on hypertrophic changes in cardiomyocytes

LI Bin^{1,2}, LI Jia¹, YUAN Zhongjie¹, ZHU Mingjun¹, XIE Shiyang¹, GAO Yuan¹, YU Rui¹, WANG Xinlu¹(1. Heart Center, the First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450099, China; 2. Henan Evidence-based Traditional Chinese Medicine Center, Zhengzhou 450099, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To investigate the ameliorative effects and potential mechanism of total secondary ginsenosides (TSG) on hypertrophic changes of primary cardiomyocytes stimulated by angiotensin II (Ang II). **METHODS** Primary cardiomyocytes were isolated from the hearts of neonatal SD rats and divided into the following groups: control group, Ang II group (2 μmol/L), TSG group (7.5 μg/mL), PFK-015 group [6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2, 6-bisphosphatase 3 (PFKFB3) inhibitor, 10 nmol/L], and TSG+PFK-015 group (TSG 7.5 μg/mL+PFK-015 10 nmol/L). The surface area, protein synthesis, energy metabolism-related indicators [free fatty acid (FFA), coenzyme A (CoA), acetyl coenzyme A (acetyl-CoA)], and the expressions of glycolysis-related factors [hypoxia-inducible factor 1α (HIF-1α), glucose transporter protein 4 (GLUT-4), lactate dehydrogenase A (LDHA), pyruvate dehydrogenase kinase 1 (PDK1) and PFKFB3] in primary cardiomyocytes of each group were measured. **RESULTS** Compared with the control group, the surface area of primary cardiomyocytes and protein synthesis were significantly increased, the content of FFA, protein and mRNA expressions of HIF-1α, LDHA, PDK1 and PFKFB3 were significantly increased or up-regulated in the Ang II group, while the contents of CoA and acetyl-CoA, the protein and mRNA expressions of GLUT-4 were significantly decreased or down-regulated ($P<0.05$). Compared with the Ang II group, both TSG group and PFK-015 group showed significant improvements in these indexes, with the TSG+PFK-015 group generally demonstrating superior effects compared to either treatment alone ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** TSG can reduce the surface area of Ang II-induced primary cardiomyocytes, decrease protein synthesis, and inhibit their hypertrophic changes. These effects may be related to improving energy metabolism and the inhibition of glycolysis activity.

KEYWORDS total secondary ginsenosides; heart failure; cardiomyocyte; hypertrophic change; energy metabolism; glycolysis

△基金项目 国家自然科学基金项目(No.82074226)

*第一作者 副主任医师,硕士生导师,硕士。研究方向:中西医结合防治心血管疾病。电话:0371-66150382。E-mail: libinnvhai@163.com

#通信作者 教授,博士生导师,博士。研究方向:中西医结合防治心血管疾病。电话:0371-66262960。E-mail: zhumingjun317@163.com

心力衰竭(heart failure, HF)是指任何原因引起心肌损伤,造成心肌结构和功能发生改变,致使心室泵血功能降低而不能满足机体代谢需要的临床综合征。该病致死率高,可导致患者出现呼吸困难、咳嗽、水肿等多种

临床表现,并频繁住院^[1]。尽管目前我国HF的治疗取得了诸多进展,但其患病率仍呈持续升高的趋势,该病已成为影响我国城乡居民健康的重要因素之一^[2]。研究指出,病理性心脏肥大是导致HF、心功能障碍、猝死的关键危险因素,而改善病理性心脏肥大可能是减缓HF发展的有效途径^[3]。当病理性心脏肥大发生时,心肌细胞的能量代谢明显改变,糖酵解活动异常增强,参与糖酵解途径的缺氧诱导因子1 α (hypoxia-inducible factor 1 α , HIF-1 α)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、6-磷酸果糖-2-激酶/果糖-2,6-二磷酸酶3(6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-biphosphatase 3, PFKFB3)等蛋白/酶的表达明显上调,而抑制糖酵解可有效缓解心肌细胞的肥大性改变^[4-5]。

人参是我国传统的补气要药,具有大补元气、补肺益肺等功效,在HF治疗领域具有重要作用^[6]。研究发现,人参皂苷Rg₃可抑制血管紧张素II(angiotensin II, Ang II)诱导的小鼠病理性心脏肥大,减小左心室质量,提高左室射血分数和缩短分数,且上述作用可能是通过调节能量代谢而实现的^[7];人参皂苷Rh₂可通过抑制糖酵解途径来促进肿瘤细胞的凋亡^[8]。上述研究表明,人参改善心脏肥大、调节细胞糖酵解的作用与其主要活性成分人参皂苷关系密切。人参总次苷(total secondary ginsenosides, TSG)是借助相关专利技术将人参皂苷水解而得到的总皂苷,包括具有重要药效作用的人参皂苷、稀有人参皂苷等成分,其中人参皂苷(含稀有人参皂苷)的含量不低于64%^[9]。本课题组前期研究结果显示, TSG可提高缺氧条件下人H9c2细胞中三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)的含量,改善其能量代谢,抑制其凋亡^[10]。结合上述文献和前期研究,本课题组推测TSG可能与心肌细胞的肥大性改变和能量代谢密切相关。基于此,本研究以新生SD大鼠原代心肌细胞为对象,使用Ang II诱导构建肥大性改变心肌细胞模型,以糖酵解调节因子PFKFB3的抑制剂PFK-015为参照,初步探讨TSG对心肌细胞肥大性改变的影响及潜在机制,以期TSG用于临床治疗HF提供实验依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括HBS-1096A型酶标仪(南京德铁生物科技有限公司),CIB-191TX型CO₂细胞培养箱(苏州捷美电子有限公司),FACSCelesta型流式细胞仪[碧迪医疗器械(上海)有限公司],ECLIPSE C1型正置荧光显微镜(日本Nikon公司),164-5050型电泳仪电源、Mini-PROTEAN型垂直电泳槽、Mini Trans-Blot型电泳转印仪(美国Bio-Rad公司),QuickChemi 5200型化学发光成像系统(武汉莫纳生物科技有限公司),TL-988型荧

光定量聚合酶链式反应(PCR)仪(西安天隆科技有限公司)等。

1.2 主要药品和试剂

TSG原料药(批号20190401,纯度 \geq 64%)由上海辉昱生物医药科技有限公司提供;Ang II(纯度 \geq 98%)、II型胶原酶(批号分别为A9290、C8150)均购自北京索莱宝科技有限公司;PFK-015对照品(纯度 \geq 99%)、CCK-8试剂(批号分别为GC16993、GK10001)均购自美国Glp-Bio公司;胎牛血清(批号FSP500)购自苏州依科赛生物科技股份有限公司;DMEM培养基(批号C11995500-BT)购自美国Gibco公司;游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)比色法测试盒(批号E-BC-K792-M)购自武汉伊莱瑞特生物股份有限公司;0.1%Triton X-100免疫染色通透液(批号BL934A)购自北京兰杰柯科技有限公司;兔抗心肌肌钙蛋白T(cardiac troponin T, cTnT)多克隆抗体和藻红蛋白标记的山羊抗兔、驴抗鼠免疫球蛋白G二抗(批号分别为15513-1-AP、SA00008-2、SA00008-9)均购自武汉三鹰生物技术有限公司;鼠抗 α -肌动蛋白(α -actin)单克隆抗体、兔抗HIF-1 α 多克隆抗体、兔抗葡萄糖转运蛋白4(glucose transporter protein 4, GLUT-4)多克隆抗体、兔抗LDHA多克隆抗体、鼠抗丙酮酸脱氢酶激酶1(pyruvate dehydrogenase kinase 1, PDK1)单克隆抗体和辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔、山羊抗鼠免疫球蛋白G二抗(批号分别为YM3612、YT2133、YT5523、YN3033、YM0513、RS0001、RS0002)均购自美国Immuno-Way公司;辅酶A(coenzyme A, CoA)检测试剂盒(批号MAK034)购自西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司;乙酰辅酶A(acetyl coenzyme A, acetyl-CoA)含量测定试剂盒(批号ACA-2B-Y)购自苏州科铭生物技术有限公司;鼠抗 α -微管蛋白(α -tubulin)单克隆抗体(批号GTX628802)购自美国GeneTex公司;兔抗PFKFB3单克隆抗体(批号ab181861)购自艾博抗(上海)贸易有限公司;TRIzol试剂(批号15596026)购自美国Thermo Fisher Scientific公司;反转录试剂盒、实时荧光定量PCR检测试剂盒(批号分别为FSQ-101、QPK-201)均购自东洋纺(上海)生物科技有限公司;PURO-Flour蛋白合成分析试剂盒(批号601100)购自美国Cayman Chemical公司;所用PCR引物由本课题组利用PrimerDesignerTM工具设计,由苏州金唯智生物科技有限公司合成。

1.3 实验动物

本研究涉及的实验动物为SPF级新生SD大鼠(出生1~3 d),雌雄不限,体重5~6 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,动物生产许可证号为SCXK(京)2021-0011。本研究方案经河南中医药大学实验动物伦理委员会审查批准(批准编号DWLL202203023)。

2 方法

2.1 原代心肌细胞分离、培养和鉴定

取新生SD大鼠数只,分离其心室部分并修剪成大小约1 mm³的组织块,加入0.25%胰蛋白酶和0.2% II型胶原酶,经不锈钢网(200目)过滤后,以1 200 r/min离心5 min,用含10%胎牛血清的DMEM培养基重悬并接种于培养瓶中,采用差速贴壁法去除成纤维细胞(每天观察细胞状态,待细胞生长至80%时进行传代,每2 d更换1次培养液)。取培养72 h的单层细胞,转移至玻片上,用4%甲醛溶液固定20 min后,用含0.1% Triton X-100免疫染色通透液的磷酸盐缓冲液(PBS)渗透10 min,再用含牛血清白蛋白的PBS封闭非特异性结合位点30 min;加入cTnT一抗(稀释度1:100),于4 °C下孵育过夜;以PBS洗涤后,用藻红蛋白标记的相应二抗(稀释度1:200)孵育1 h;使用含抗荧光淬灭剂的封片液封片后,再使用荧光显微镜观察、鉴定(心肌细胞具有特异性的cTnT荧光信号)。

2.2 分组、造模与给药

取“2.1”项下处于对数生长期的原代心肌细胞,将其分为对照组(C组)、Ang II组(M组)、TSG组(T组)、PFK-015组(P组)、TSG+PFK-015组(T+P组)。C组细胞不作任何处理,其余各组细胞均加入终浓度为2 μmol/L的Ang II(诱导浓度根据预实验结果设置),各药物组细胞再分别加入终浓度为7.5 μg/mL的TSG或/和10 nmol/L的PFK-015(干预浓度根据预实验结果设置),于37 °C、5%CO₂条件下培养24 h。

2.3 细胞表面积检测

按“2.2”项下方法分组(每组各4个复孔)、造模、给药。收集各组细胞,用4%多聚甲醛溶液固定后再以PBS浸洗,使用0.1% Triton X-100免疫染色通透液于室温下通透15 min;滴加5%正常血清,室温下封闭1 h;加入α-actin一抗(稀释度1:200),4 °C下孵育过夜;以PBS浸洗3次,加入藻红蛋白标记的相应二抗(稀释度1:200),37 °C下孵育1 h;加入4',6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI)染色试剂适量,避光孵育5 min;使用含抗荧光淬灭剂的封片液封片后,再使用荧光显微镜观察并采集图像。采用Image-Pro Plus 6.0软件计算细胞表面积:细胞表面积(μm²/个)=总阳性面积(呈红色荧光)/细胞总数。

2.4 细胞蛋白合成检测

按“2.2”项下方法分组(每组各8个复孔)、造模、给药。收集各组细胞,严格按照蛋白合成分析试剂盒说明书操作,使用酶标仪测定其相对荧光值,用以反映各组细胞的蛋白合成情况(细胞相对荧光值越大,表明其蛋白合成越异常增加,心肌细胞肥大性改变越明显)。

2.5 细胞能量代谢相关指标含量检测

按“2.2”项下方法分组(每组各3个复孔)、造模、给药。收集各组细胞,严格按照相应试剂盒说明书操作,

使用酶标仪于特定波长下测定各孔细胞的光密度(OD)值,并按照说明书中的公式分别计算FFA、CoA、acetyl-CoA的含量。

2.6 细胞糖酵解相关因子表达检测

采用Western blot法检测各组细胞中相关蛋白的表达。按“2.2”项下方法分组(每组各3个复孔)、造模、给药。收集各组细胞,加入含苯甲基磺酰氟的高效RIPA裂解液适量,充分裂解,并于4 °C下以12 000 r/min离心5 min,收集上清液,以BCA法测定蛋白浓度后进行变性处理。取变性蛋白适量,进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,并转移至聚偏二氟乙烯膜上,以封闭液于室温下振摇封闭2 h;洗膜后,加入HIF-1α、GLUT-4、LDHA、PDK1、PFKFB3、α-tubulin一抗(稀释度分别为1:1 000、1:1 000、1:1 000、1:1 000、1:1 000、1:5 000),于4 °C下孵育过夜;洗膜后,加入相应二抗(稀释度均为1:10 000),于室温下振摇孵育1 h;洗膜后,以ECL发光液显色、曝光、成像。使用Image J软件分析各蛋白的灰度值,以各目的蛋白与内参蛋白(α-tubulin)的灰度值比值表示目的蛋白的相对表达量。

采用实时聚合酶链式反应(real-time PCR, RT-PCR)法检测各组细胞中相关因子mRNA的表达情况。收集上述各组细胞,加入TRIzol试剂以提取细胞总RNA。待测定其浓度、纯度后,按相应试剂盒说明书方法将其反转录为cDNA,并以此为模板进行PCR扩增。反应体系(20 μL)包括2×SYBR Green qPCR Master Mix(无ROX染料)10 μL、正向/反向引物(具体序列及产物长度见表1)各2 μL、cDNA模板1 μL、无核酶水5 μL。反应条件为95 °C预变性30 s;95 °C变性15 s,60 °C退火/延伸30 s,共40个循环。以α-tubulin为内参,采用2^{-ΔΔCt}法计算目的基因的相对表达量,结果以C组为参照进行归一化处理。

表1 引物序列及扩增产物长度

目的基因	序列(5'-3')	扩增产物长度/bp
HIF-1α	正向引物:AAGTCTAGGGATGCAGCACG	101
	反向引物:AGATGGGAGCTCACGTTGTG	
GLUT-4	正向引物:TGGAAAAGAGAGCGTCCACTG	189
	反向引物:CAGTCTCTATGGTGGCGTAG	
LDHA	正向引物:CCTCAGCGTCCCATGATCC	99
	反向引物:TCTGCATCTTCTTCAGCGG	
PDK1	正向引物:GTCGGAGAGCGGCGTT	144
	反向引物:ACAGGCAACTCTTGTCGAAGAA	
PFKFB3	正向引物:TTTGGAACTGACCCAGAGCC	124
	反向引物:GAGCCCCACCATCACAATCA	
α-tubulin	正向引物:CGCTGTAAGAAGCAACCT	83
	反向引物:GGAGATACACTCACCGCATGG	

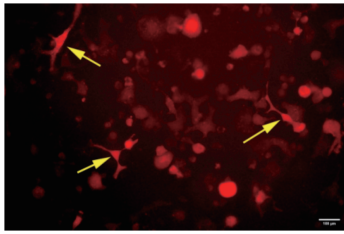
2.7 统计学方法

采用SPSS 25.0软件对数据进行统计分析。实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用LSD-*t*检验(方差齐时)或Dunnnett's *T3*检验(方差不齐时)。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 原代心肌细胞的鉴定

原代心肌细胞具有特异性的cTnT荧光信号,并多呈菱形、多边形等不规则形状。结果见图1。



黄色箭头:具特异性cTnT荧光信号的原代心肌细胞。

图1 原代心肌细胞免疫荧光鉴定图(标尺:100 μm)

3.2 TSG对Ang II诱导原代心肌细胞表面积的影响

与C组[(558.21 ± 59.38) μm²/个]相比,M组细胞的表面积[(758.67 ± 69.51) μm²/个]显著增大(P<0.05)。与M组相比,T组、P组心肌细胞的表面积[(609.19 ± 15.91)、(625.49 ± 25.86) μm²/个]均显著缩小(P<0.05)。与T组、P组相比,T+P组心肌细胞的表面积[(561.25 ± 55.09) μm²/个]虽有下降趋势,但组间差异均无统计学意义(P>0.05)。结果见图2。

3.3 TSG对Ang II诱导原代心肌细胞蛋白合成的影响

与C组(14 013.3 ± 424.3)相比,M组细胞的相对荧光值(28 240.4 ± 2 143.9)显著升高(P<0.05)。与M组相比,T组、P组细胞的相对荧光值(16 163.2 ± 1 249.8、22 843.5 ± 1 739.7)均显著降低(P<0.05)。与P组相比,T+P组细胞的相对荧光值(16 354.2 ± 1 270.8)显著下降(P<0.05),但与T组相比差异无统计学意义(P>0.05)。

3.4 TSG对Ang II诱导原代心肌细胞中能量代谢指标含量的影响

与C组相比,M组细胞中FFA含量显著升高,CoA、acetyl-CoA含量均显著降低(P<0.05)。与M组相比,T组、P组细胞中FFA含量均显著降低,CoA、acetyl-CoA含量均显著升高(P<0.05)。与T组、P组相比,T+P组细胞中FFA含量均显著降低,CoA、acetyl-CoA含量均显著升高(P<0.05)。结果见表2。

表2 各组细胞中能量代谢指标含量比较($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	FFA/(mmol/g)	CoA/(nmol/mg)	acetyl-CoA/(nmol/mg)
C组	0.16 ± 0.02	277.01 ± 32.44	208.29 ± 18.94
M组	1.09 ± 0.24 ^a	109.11 ± 26.21 ^a	57.70 ± 4.78 ^a
T组	0.63 ± 0.07 ^b	169.35 ± 13.01 ^b	113.99 ± 8.79 ^b
P组	0.65 ± 0.11 ^b	172.37 ± 15.03 ^b	153.39 ± 8.80 ^b
T+P组	0.39 ± 0.07 ^{cd}	221.11 ± 27.42 ^{cd}	192.93 ± 9.66 ^{cd}

a:与C组相比,P<0.05;b:与M组相比,P<0.05;c:与T组相比,P<0.05;d:与P组相比,P<0.05。

3.5 TSG对Ang II诱导原代心肌细胞中糖酵解相关因子表达的影响

与C组相比,M组细胞中HIF-1α、LDHA、PDK1、PFKFB3蛋白及mRNA的表达均显著上调,GLUT-4蛋白及mRNA的表达均显著下调(P<0.05)。与M组相比,T组、P组细胞中HIF-1α、LDHA、PDK1、PFKFB3蛋白及mRNA的表达均显著下调,GLUT-4蛋白及mRNA的表达均显著上调(P<0.05)。与T组、P组相比,T+P组细胞中HIF-1α、PDK1、PFKFB3蛋白及mRNA和LDHA蛋白的表达均显著下调,GLUT-4蛋白及mRNA的表达均显著上调(P<0.05)。结果见图3、表3。

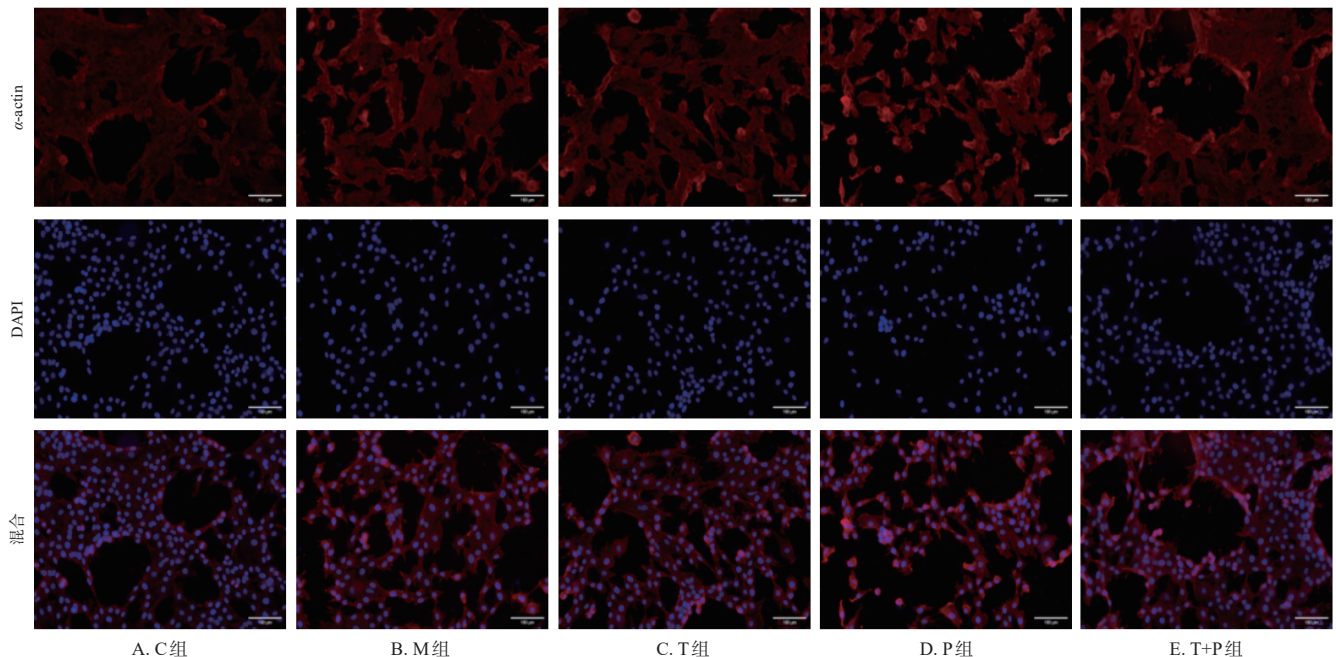


图2 TSG对Ang II诱导原代心肌细胞表面积的影响(标尺:100 μm)

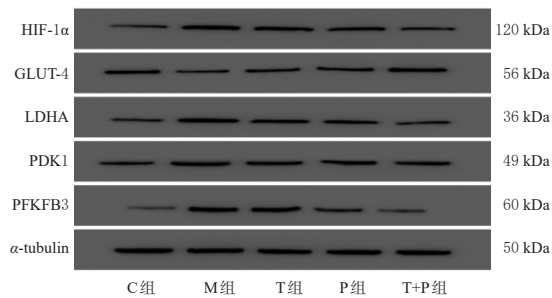


图3 各组细胞中糖酵解相关蛋白表达的电泳图

4 讨论

HF是一种以心脏泵血(充血)能力下降为特征的复杂的慢性心脏病,在其发展过程中常常伴随着病理性心脏肥大,具体表现为心肌细胞体积增大和心脏质量增加^[11]。研究指出,病理性心脏肥大与机体神经内分泌激素(如Ang II、内皮素-1等)的异常分泌关系密切,这些激素可激活膜结合受体,刺激多条下游信号通路,最终引起心脏肥大^[12]。因此,本研究采用Ang II刺激原代心肌细胞构建心肌细胞肥大模型。研究发现,细胞表面积增大和蛋白合成增加是心肌细胞肥大性改变的重要病理变化^[13]。本研究结果显示,原代心肌细胞表面积在Ang II的刺激下显著增大,蛋白合成显著增加;经TSG干预后,原代心肌细胞表面积和蛋白合成状况均有明显改善,提示TSG可改善Ang II所导致的原代心肌细胞肥大性改变。

能量代谢改变是心肌细胞发生肥大性改变的重要环节,与HF的进展密切相关。FFA参与细胞氧化代谢并在线粒体中分解,以ATP的形式释放大能量,是人体组织的重要能量来源^[14]。但FFA异常升高是心血管疾病的独立危险因素之一,可促进心肌细胞的肥大性改变,在HF的发生过程中发挥着重要作用^[15]。CoA与人体多种合成/分解代谢有关,同时也是机体能量生成所必需的调节因子^[16]。acetyl-CoA是CoA通过硫酯键与乙酰基连接而成,可为三羧酸循环和电子传递链提供动力,是人体能量代谢的中间体和关键信号分子^[17]。在部分细胞的能量代谢重编程中,糖酵解活动的增强不仅减少了丙酮酸向acetyl-CoA的转化,使acetyl-CoA含量降低,同时也和异常升高的FFA密切相关^[18]。本研究结果显示,与C组相比,M组原代心肌细胞中FFA含量显著升高,CoA、acetyl-CoA含量均显著降低,提示肥大性改变

过程中心肌细胞的能量代谢发生了明显的改变;给予TSG干预后,T组细胞的FFA含量显著降低,CoA、acetyl-CoA含量均显著升高,提示TSG参与了肥大心肌细胞能量代谢的调节过程。

病理性心脏肥大发生时,能量代谢的主要特征是从脂肪酸氧化转变为更多地依赖糖酵解^[19]。HIF-1α不仅可参与调控下游葡萄糖转运与糖酵解相关因子的表达,而且是促进心肌细胞肥大性改变的重要调节因子^[20]。GLUT-4是心肌细胞摄取葡萄糖的重要载体,能优化受损心肌组织的能量底物转化;LDHA是细胞糖酵解的关键酶之一,能将糖酵解过程中产生的丙酮酸转化为乳酸,其表达水平和糖酵解通量呈正相关^[21]。PDK1一方面可通过磷酸化丙酮酸脱氢酶复合物E1α亚基、抑制该复合物活性来促进糖酵解,另一方面还可增强HIF-1α蛋白的稳定性,与HIF-1α形成正反馈回路^[22]。PFKFB3具有多种同工酶亚型,其中PFKFB3的活性较高,可通过调节果糖-2,6-二磷酸的生成而增加糖酵解通量,是糖酵解过程的关键调节因子^[23]。研究表明,HIF-1α/PFKFB3信号通路可通过影响细胞的能量代谢、线粒体活性、其他信号通路表达等多种方式来促进(抑制)多种疾病的发生与进展^[24]。上述研究表明,HIF-1α、GLUT-4、LDHA、PDK1、PFKFB3的表达与糖酵解活动密切相关。本研究结果显示,与C组相比,M组细胞中HIF-1α、LDHA、PDK1、PFKFB3蛋白及mRNA的表达均显著上调,GLUT-4蛋白及mRNA的表达均显著下调,提示Ang II刺激下的原代心肌细胞的糖酵解活动明显增强;给予TSG干预后,T组细胞中HIF-1α、LDHA、PDK1、PFKFB3蛋白及mRNA的表达均显著下调,GLUT-4蛋白及mRNA的表达均显著上调,提示TSG可减弱Ang II刺激下原代心肌细胞的糖酵解活动。

PFK-015是PFKFB3的特异性抑制剂,能通过抑制PFKFB3的表达来调节细胞中的葡萄糖代谢^[25]。基于此,本研究选择PFK-015单用、TSG+PFK-015联用,以进一步观察TSG改善Ang II诱导原代心肌细胞肥大性改变的潜在机制。结果显示,P组细胞的表面积、蛋白合成均较M组显著改善,且变化趋势与T组相同;T+P组细胞的蛋白合成较P组进一步减弱,表面积差异虽无统计学意义,但较T组、P组呈下降趋势。进一步对能量代谢及糖酵解相关指标进行检测,结果显示,P组细胞能量代谢相关指标(FFA、CoA、acetyl-CoA含量)均较M组显著

表3 各组细胞中糖酵解相关因子蛋白及mRNA的相对表达量比较($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	蛋白					mRNA				
	HIF-1α	GLUT-4	LDHA	PDK1	PFKFB3	HIF-1α	GLUT-4	LDHA	PDK1	PFKFB3
C组	0.31 ± 0.08	1.22 ± 0.14	0.18 ± 0.04	0.47 ± 0.06	0.25 ± 0.07	1.00 ± 0.11	1.00 ± 0.06	1.00 ± 0.25	1.00 ± 0.15	1.00 ± 0.27
M组	1.49 ± 0.11 ^a	0.33 ± 0.05 ^b	1.31 ± 0.09 ^a	0.90 ± 0.08 ^a	1.20 ± 0.07 ^a	3.21 ± 0.26 ^c	0.45 ± 0.07 ^b	2.39 ± 0.25 ^b	2.92 ± 0.24 ^a	3.98 ± 0.36 ^c
T组	0.99 ± 0.06 ^c	0.60 ± 0.11 ^b	0.90 ± 0.09 ^b	0.69 ± 0.09 ^b	0.75 ± 0.06 ^b	1.71 ± 0.15 ^b	0.75 ± 0.02 ^b	1.55 ± 0.09 ^b	2.17 ± 0.12 ^b	1.96 ± 0.12 ^b
P组	0.56 ± 0.09 ^b	0.61 ± 0.04 ^b	0.47 ± 0.07 ^b	0.61 ± 0.11 ^b	0.56 ± 0.08 ^b	1.98 ± 0.13 ^b	0.76 ± 0.09 ^b	1.53 ± 0.06 ^b	1.90 ± 0.19 ^b	1.59 ± 0.14 ^b
T+P组	0.35 ± 0.05 ^d	1.05 ± 0.05 ^d	0.18 ± 0.04 ^d	0.40 ± 0.05 ^d	0.29 ± 0.05 ^d	1.37 ± 0.11 ^d	0.91 ± 0.02 ^d	1.28 ± 0.10	1.45 ± 0.05 ^d	1.08 ± 0.07 ^d

a:与C组相比, $P < 0.05$;b:与M组相比, $P < 0.05$;c:与T组相比, $P < 0.05$;d:与P组相比, $P < 0.05$ 。

改善,糖酵解相关因子(HIF-1 α 、GLUT-4、LDHA、PDK1、PFKFB3蛋白及mRNA)均较M组显著逆转,且变化趋势与T组相同;T+P组细胞上述指标(LDHA mRNA除外)的改变均较T组、P组明显。这提示TSG和PFK-015联用可能进一步抑制了肥大心肌细胞中的糖酵解活动,表明TSG对Ang II诱导原代心肌细胞肥大性改变的改善作用可能是通过抑制糖酵解活动而实现的。

综上所述,TSG可缩小Ang II诱导原代心肌细胞的表面积,减少蛋白合成,抑制其肥大性改变;上述作用可能与改善细胞能量代谢、抑制糖酵解活动有关。但本研究仅选择了一种糖酵解抑制剂,机制研究较为单一,有待后续研究进一步完善。

参考文献

[1] SAPNA F, RAVEENA F, CHANDIO M, et al. Advancements in heart failure management: a comprehensive narrative review of emerging therapies[J]. *Cureus*, 2023, 15(10):e46486.

[2] 中华医学会心血管病学分会,中国医师协会心血管内科医师分会,中国医师协会心力衰竭专业委员会,等.中国心力衰竭诊断和治疗指南2024[J]. *中华心血管病杂志*, 2024, 52(3):235-275.

[3] 张晓亮,赵晓玲,耿静,等.亚精胺通过改善心脏线粒体能量代谢缓解压力超负荷小鼠心力衰竭[J]. *中国病理生理杂志*, 2024, 40(2):193-203.

[4] 崔艺萌,王玉珏,崔金刚,等.肉桂酸对早期心肌肥大的干预作用及促进脂肪酸转运的机制研究[J]. *中华中医药杂志*, 2024, 39(5):2181-2187.

[5] LUAN H L, WANG Z H, ZHANG Z Z, et al. *Brassica oleracea* L. extract ameliorates isoproterenol-induced myocardial injury by regulating HIF-1 α -mediated glycolysis[J]. *Fitoterapia*, 2024, 172:105715.

[6] 李昊楠,孔浩天,李晓彬,等.利用网络药理学整合分子对接技术研究人参抗心力衰竭的潜在药效物质基础及作用机制[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2020, 22(12):4083-4093.

[7] NI J Y, ZHANG H, WANG X D, et al. Rg3 regulates myocardial pyruvate metabolism via P300-mediated dihydroliipoamide dehydrogenase 2-hydroxyisobutyrylation in TAC-induced cardiac hypertrophy[J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(12):1073.

[8] LIU X Y, LI J J, HUANG Q Q, et al. Ginsenoside Rh2 shifts tumor metabolism from aerobic glycolysis to oxidative phosphorylation through regulating the HIF1- α /PDK4 axis in non-small cell lung cancer[J]. *Mol Med*, 2024, 30(1):56.

[9] 孔从新,罗何生,赵咏丽.一种人参总次苷药物组合物及其制备方法和应用:CN1723912A [P]. 2006-01-25.

[10] 袁中杰,肖悦,刘真,等.基于线粒体生物发生探讨人参总次苷对缺氧下H9c2细胞凋亡和能量代谢的影响[J]. *中国中药杂志*, 2025, 50(5):1255-1266.

[11] CLUNTUN A A, BADOLIA R, LETTLOVA S, et al. The pyruvate-lactate axis modulates cardiac hypertrophy and heart failure[J]. *Cell Metab*, 2021, 33(3):629-648.e10.

[12] WAN J J, ZHANG Z, WU C N, et al. Astragaloside IV derivative HHQ16 ameliorates infarction-induced hypertrophy and heart failure through degradation of lncRNA4012/9456[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1):414.

[13] 刘宇,张培培,次仁德庆,等.机械刺激下心肌肥厚的分子机制研究进展[J]. *中国老年学杂志*, 2025, 45(2):483-488.

[14] KIMURA I, ICHIMURA A, OHUE-KITANO R, et al. Free fatty acid receptors in health and disease[J]. *Physiol Rev*, 2020, 100(1):171-210.

[15] YU F Z, ZONG B Y, JI L L, et al. Free fatty acids and free fatty acid receptors: role in regulating arterial function[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(14):7853.

[16] CZUMAJ A, SZROK-JURGA S, HEBANOWSKA A, et al. The pathophysiological role of CoA[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(23):9057.

[17] GUERTIN D A, WELLEN K E. Acetyl-CoA metabolism in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2023, 23(3):156-172.

[18] RUSSO S, KWIATKOWSKI M, GOVORUKHINA N, et al. Meta-inflammation and metabolic reprogramming of macrophages in diabetes and obesity: the importance of metabolites[J]. *Front Immunol*, 2021, 12:746151.

[19] WANG C, QIAO S P, ZHAO Y F, et al. The KLF7/PFKL/ACADL axis modulates cardiac metabolic remodelling during cardiac hypertrophy in male mice[J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1):959.

[20] YANG Y T, ZOU P T, HE L, et al. CBL aggravates Ang II-induced cardiac hypertrophy via the VHL/HIF-1 α pathway[J]. *Exp Cell Res*, 2021, 405(2):112730.

[21] 林祉均,陈梓欣,江佳林,等.暖心康通过“代谢-炎症”网络调控巨噬细胞极化对心肌梗死后小鼠心室重构的影响[J]. *中药新药与临床药理*, 2024, 35(2):159-167.

[22] WEI Y, ZHANG D, SHI H, et al. PDK1 promotes breast cancer progression by enhancing the stability and transcriptional activity of HIF-1 α [J]. *Genes Dis*, 2023, 11(4):101041.

[23] XIAO M, LIU D D, XU Y, et al. Role of PFKFB3-driven glycolysis in sepsis[J]. *Ann Med*, 2023, 55(1):1278-1289.

[24] MIN J, ZENG T S, ROUX M, et al. The role of HIF1 α -PFKFB3 pathway in diabetic retinopathy[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2021, 106(9):2505-2519.

[25] ZHENG J B, WONG C W, LIU J, et al. Glucose metabolism inhibitor PFK-015 combined with immune checkpoint inhibitor is an effective treatment regimen in cancer[J]. *Oncoimmunology*, 2022, 11(1):2079182.

(收稿日期:2024-12-10 修回日期:2025-04-18)

(编辑:张元媛)