

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2025.20.012

基于转录组学和实验验证的参萸养心胶囊治疗心力衰竭的作用机制研究

刘孟楠, 张丁山, 伍浩, 万针汛, 兰琪, 宋梦林, 罗钢, 陈丽✉

西南医科大学中西医结合学院/西南医科大学附属中医医院, 四川省泸州市龙马潭区春晖路182号, 646000

[摘要] **目的** 基于转录组学和实验验证探讨参萸养心胶囊治疗心力衰竭的作用机制。**方法** 将50只C57BL/6小鼠随机分为正常组、模型组、参萸养心低剂量组、参萸养心高剂量组以及福辛普利钠组, 每组10只。除正常组外, 其他各组均采用背部皮下多点注射异丙肾上腺素溶液5 mg/(kg·d)建立心力衰竭小鼠模型。造模首日起福辛普利钠组予福辛普利钠2.6 mg/(kg·d)灌胃, 参萸养心低剂量组、高剂量组分别给予参萸养心胶囊1.56 g/(kg·d)、6.24 g/(kg·d)灌胃, 每组均连续28天。末次给药次日采用超声心动图检测小鼠心功能、Masson染色观察心脏组织形态; 利用转录组测序筛选小鼠差异基因的mRNA, 应用实时荧光定量PCR法和Western Blot法对筛选出的关键差异基因的mRNA和蛋白表达进行验证。**结果** 与正常组比较, 模型组小鼠左室射血分数(LVEF)和左室短轴缩短率(LVFS)值降低, 左室舒张末期内径(LVIDd)、左室收缩末期内径(LVIDs)值升高($P<0.05$), 心肌细胞排列结构紊乱, 蓝染胶原纤维增多; 与模型组比较, 各干预组小鼠LVEF和LVFS值升高, LVIDd、LVIDs值降低($P<0.05$), 心肌病理学变化均得到不同程度的改善。与模型组比较, 参萸养心高剂量组有831个基因上调, 391个基因下调。结合基因本体论(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)分析, 筛选出过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR)信号通路为关键通路, ACSL1、SCD1、PPAR α 、Angptl4、CPT1 α 、PGC-1 α 为关键mRNA。与正常组比较, 模型组小鼠心脏组织ACSL1、SCD1、PPAR α 、Angptl4、CPT1 α 、PGC-1 α mRNA及蛋白表达降低($P<0.05$); 与模型组比较, 各干预组小鼠心脏组织ACSL1、SCD1、PPAR α 、Angptl4、CPT1 α 、PGC-1 α mRNA及蛋白表达升高($P<0.05$); 与参萸养心低剂量组比较, 参萸养心高剂量组小鼠心脏组织ACSL1、SCD1、PPAR α 、CPT1 α 、PGC-1 α mRNA及蛋白表达升高($P<0.05$)。**结论** 参萸养心胶囊治疗心力衰竭可能与改善心肌纤维化, 调控ACSL1、SCD1、PPAR α 、Angptl4、CPT1 α 、PGC-1 α 基因及蛋白表达有关。

[关键词] 心力衰竭; 参萸养心胶囊; 转录组学; 过氧化物酶体增殖物激活受体信号通路

心力衰竭(heart failure, HF)作为多种心血管疾病的终末阶段, 以呼吸困难、下肢水肿及心悸等典型症状为临床特征, 常伴颈静脉高压、肝淤血等循环系统异常^[1]。心力衰竭具有患病率高、生存率低、导致患者生活质量下降的特点, 已成为重大公共卫生问题^[2]。从病理机制而言, 心肌纤维化作为心力衰竭心脏病理性重构的核心特征, 不仅是心室顺应性降低、收缩功能受损的结构基础, 更是疾病进展的关键标志^[3]。当前药物治疗普遍存在疗效

个体差异大、远期预后欠佳等问题^[4], 因此探索新型治疗手段及靶点具有重要临床价值。

中医学将心力衰竭归为“心衰病”范畴, 认为其病机以心气亏虚为本, 兼夹血瘀水停为主, 强调益气温阳、活血利水的治则^[5-6]。参萸养心胶囊为西南医科大学附属中医医院特色制剂。前期研究证实, 参萸养心胶囊具有抗心肌纤维化的作用^[7], 但其调控能量代谢、干预细胞凋亡等作用机制尚不清楚。本研究采用高通量转录组测序技术, 通过建立异丙肾上腺素(ISO)诱导的小鼠心力衰竭模型, 观察参萸养心胶囊干预后心肌组织基因表达谱的动态变化, 挖掘参萸养心胶囊防治心力衰竭的潜在保

基金项目: 国家自然科学基金(82074378); 四川省科技厅项目(2022YFS0618)

✉ 通讯作者: chenli199108@foxmail.com

护性靶点, 为其临床应用提供依据。本研究已获得西南医科大学实验动物伦理委员会批准, 伦理批号: SWMU20240042。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠 50 只, 8 周龄, 体重 (20±1) g, 购自成都达硕实验动物有限公司, 实验动物生产许可证号为 SCXK (川) 2020-0030。在西南医科大学实验动物中心 SPF 级实验室内饲养, 12 h 小时光/暗循环、温度 19~22 °C、湿度 40%~60%, 经自由摄食饮水适应性喂养 1 周后进行造模。

1.2 药物

参萸养心胶囊 (0.4 g/粒, 川药制备字: Z20230072000, 批号: 20250118) 由西南医科大学附属中医院制剂室提供, 药物由红参、山萸肉、丹参 3 味药物, 按照质量 2: 2: 1 的比例经粉碎、混匀装入胶囊制成。盐酸异丙肾上腺素 (ISO, MedChemExpress 公司, 批号: HY-B0468/CS-2582)。福辛普利钠片 (10 mg/片, 中美上海施贵宝制药有限公司, 批号: H19980197)。

1.3 主要试剂及仪器

Masson 三色染色试剂盒 (货号: G1340), 北京索莱宝科技有限公司; RNA 逆转录试剂盒 (货号: DBI-2220), 上海星汉生物科技有限公司; Omni-Easy™ 一步法 PAGE 凝胶快速制备试剂盒 (货号: PG212)、BCA 蛋白定量试剂盒 (货号: ZJ101), 上海雅酶生物医药科技有限公司; 长链脂酰辅酶 A 合成酶 1 (ACSL1) 抗体 (货号: DF9605)、硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 1 (SCD1) 抗体 (货号: DF13253)、过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α) 抗体 (货号: AF6284)、血管生成素样蛋白 4 (Angptl4) 抗体 (货号: DF6751)、肉碱棕榈酰转运酶 1 α (CPT1 α) 抗体 (货号: DF12004)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子 1 α (PGC-1 α) 抗体 (货号: AF5395)、 β -肌动蛋白 (β -actin) 抗体 (货号: BF8237)、双敏 ECL 化学发光试剂 (货号: KF005)、山羊抗兔 IgG (H+L) HRP (货号: S0001), 美国 Affinity Biosciences 公司; RNA 提取试剂盒 (货号: DP419), 天根生化科技公司、RNA 逆转录试剂盒 (货号: DBI-2220), 德国 DBI® Bioscience 公司。

R530 型小动物麻醉机、R415 型小动物呼吸

机, 深圳市瑞沃德生命科技股份有限公司; CKX53 型徕卡光学显微镜, 日本 Olympus 公司; Vevo 3100 型超高分辨小动物超声成像机, 加拿大 FUJIFILM VisualSonics 公司; RM2245 型石蜡切片机、EG1150 型组织包埋机, 德国 Leica 公司; LightCycler 480 II 型实时荧光定量 PCR 仪, 美国 Roche 公司; ChemiScope 6200 型化学发光成像系统, 上海勤翔科学仪器有限公司; Tetra Blotting Module 型垂直电泳设备, 美国 Bio-Rad 公司; Agilent 2100 生物分析仪, 美国 Agilent Technologies 公司; TS2R 型显微镜, 日本 Nikon 公司。

1.4 造模、分组及干预方法

50 只小鼠采用随机数字表法分为正常组、模型组、参萸养心低剂量组、参萸养心高剂量组以及福辛普利钠组, 每组 10 只。采用皮下注射 ISO 法构建小鼠心力衰竭模型^[8], 除正常组外, 其余各组均于背部皮下多点注射 ISO 溶液 5 mg/(kg·d), 浓度 1.67 mg/ml, 连续 14 天。各干预组自造模首日起每日予相应剂量药物灌胃 (每日 0.2 ml), 连续 28 天, 正常组灌胃等剂量生理盐水。参萸养心胶囊以 60 kg 成人每日治疗剂量 4.8 g/d 为基准, 按体表面积折算, 对应小鼠灌胃剂量为低剂量, 高剂量为低剂量的 4 倍, 给药剂量分别为 1.56 g/(kg·d)、6.24 g/(kg·d); 福辛普利钠组给予福辛普利钠 2.6 mg/(kg·d)。正常组与模型组同步给予等体积 0.9% 氯化钠溶液灌胃。末次给药次日所有造模小鼠采用超声心动图检测左室射血分数 (LVEF), 结果均低于 50%, 提示心力衰竭模型成功建立^[9-11], 造模成功率达 100%。

1.5 观察指标及方法

1.5.1 心功能检测 末次给药次日对所有小鼠检测心功能。小鼠经异氟烷吸入麻醉 (浓度 2%, 流量 1.5 L/min, 持续维持至操作结束), 取仰卧位固定于恒温实验台, 充分备皮暴露心前区后涂抹小动物专用超声耦合剂。应用小动物超声成像机, 将 M 型超声探头放置在小鼠左胸部与胸骨中线呈 10°~30° 处, 于左室乳头肌水平短轴切面进行超声扫描。连续获取 3 个稳定心动周期图像后, 应用配套分析软件 (Vevo LAB 5.6.1) 测量左室舒张末期内径 (LVIDd)、左室收缩末期内径 (LVIDs)、左室短轴缩短率 (LVFS) 及 LVEF。

1.5.2 Masson 染色观察心脏组织形态 心功能检测结束后, 每组采取随机数字表法选取 1 只小鼠进行 Masson 染色。使用 1% 戊巴比妥钠 40 mg/kg, 腹腔注射麻醉, 剪开肋骨, 暴露胸腔, 0.9% 氯化钠

溶液反复灌洗心脏后迅速剥离心脏，剪去周围结缔组织和血管，滤纸吸干后用 4% 多聚甲醛溶液固定心脏组织。固定后的心脏组织经石蜡包埋、切片后将石蜡切片用二甲苯脱蜡、梯度乙醇复水，改良铁苏木素混合液染色，丽春红酸性品红染液染色，1% 磷钼酸水溶液分色，0.5% 甲苯胺蓝复染，再用预冷 1% 冰醋酸分化，纯冰醋酸浸润，梯度乙醇脱水，二甲苯透明，中性树胶封片。完成后显微镜下采集图像，观察心脏组织形态。其余小鼠均脱颈断尾处死后，取心脏组织均分两个样本（每个样本约 0.1 g），放入冻存管中并长期保存于 -80 ℃ 冰箱中用于后续实验。

1.5.3 心脏组织转录组测序 根据以上指标检测结果选择干预效果更佳的参荛养心剂量组，与正常组、模型组进行后续实验。采取随机数字表法每组取出 6 个冻存的心脏组织样本，委托北京诺禾致源科技股份有限公司完成转录组测序。简要步骤如下：提取各组小鼠心肌总 RNA，经 Agilent 2100 bioanalyzer 检测 RNA 完整性（ $RIN \geq 7.0$ ）后，通过 Oligo（dT）磁珠富集 polyA mRNA。分别构建 NEB 普通文库与链特异性文库：普通文库采用随机六聚体引物合成双链 cDNA，经末端修复、A 尾添加及 Illumina 接头连接后完成制备；链特异性文库则在第二链合成阶段使用脱氧尿苷三磷酸（dUTP）替代脱氧胸苷三磷酸（dTTP），通过 USER 酶特异性消化实现链方向识别。两种文库均通过 Qubit2.0 定量（浓度 $\geq 1.5 \text{ ng}/\mu\text{l}$ ）及 Agilent 2100 验证插入片段大小（峰值 250~300 bp），其中链特异性建库技术可显著提高亚型表达定量精度及反义转录本检测灵敏度。合格文库经 Illumina NovaSeq 6000 平台进行 150 bp 双端测序，采用边合成边测序技术，通过检测荧光标记 dNTP 的实时掺入信号完成序列读取。原始数据经 CASAVA 进行碱基识别后，使用 Trimmomatic 剔除含接头序列、N 比例 $>5\%$ 及低质量（ $Q20 < 95\%$ ）的测序读段。高质量测序数据通过 Hisat2 比对至参考基因组，应用 featureCounts（1.5.0-p3）计算基因表达量，以每千碱基转录本每百万次测序的 fragments 数（FPKM）进行表达水平标准化。差异基因筛选采用 DESeq2 进行负二项分布检验（错误发现率 < 0.05 ），最终通过 clusterProfiler 4.0 软件完成基因本体论（GO）和京都基因与基因组百科全书（KEGG）分析（ $P < 0.05$ ）。

1.5.4 实时荧光定量 PCR 法检测心脏组织中 PPAR 通路相关 mRNA 表达 每组采取随机数字表

法取出 6 个冻存的心脏组织样本，每个约 0.1 g。使用 RNA 提取试剂盒获取总 RNA，经反转录试剂盒合成 cDNA。采用 SYBR Green 法进行扩增，设置熔解曲线验证产物特异性，以 $\beta\text{-actin}$ 为内参，通过 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算目的 mRNA 相对表达量。实验所用引物序列见表 1，由生工生物工程（上海）股份有限公司设计合成。

表 1 心脏组织 *ACSL1*、*SCD1*、*PPAR α* 、*Angptl4*、*CPT1 α* 、*PGC-1 α* 、 $\beta\text{-actin}$ mRNA 引物序列

Table 1 Primer sequences for cardiac tissue *ACSL1*, *SCD1*, *PPAR α* , *Angptl4*, *CPT1 α* , *PGC-1 α* and $\beta\text{-actin}$ mRNA

基因	引物序列（5'→3'）	长度/bp
<i>ACSL1</i>	上游 TGCCAGAGCTGATTGACATTC	21
	下游 GGCATACCAGAAGGTGGTGAG	21
<i>SCD1</i>	上游 TTCTTGCATACACTCTGGTGC	22
	下游 CGGGATTGAATGTTCTTGTCGT	22
<i>PPARα</i>	上游 AGAGCCCCATCTGTCTCTC	20
	下游 ACTGGTAGTCTGCAAAACCAAA	22
<i>Angptl4</i>	上游 CCCACGCACCTAGACAATG	20
	下游 GCCTCCATCTGAAGTCATCTCA	22
<i>CPT1α</i>	上游 CTCCGCCTGAGCCATGAAG	19
	下游 CACCAGTGATGATGCCATTCT	21
<i>PGC-1α</i>	上游 TATGGAGTGACATAGACTGTGCT	23
	下游 CCACTTCAATCCACCCAGAAAG	22
$\beta\text{-actin}$	上游 TCAGGTCATCAGATCGAGC	20
	下游 AAAGAAAGGCTGTAAAACGCA	21

注：*ACSL1*，长链脂酰辅酶 A 合成酶 1；*SCD1*，硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 1；*PPAR α* ，过氧化物酶体增殖物激活受体 α ；*Angptl4*，血管生成素样蛋白 4；*CPT1 α* ，肉碱棕榈酰转运酶 1 α ；*PGC-1 α* ，过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子 1 α ； $\beta\text{-actin}$ ， β -肌动蛋白。

1.5.5 Western Blot 法检测心脏组织中 PPAR 通路相关蛋白表达 每组采取随机数字表法取出 3 个冻存的心脏组织样本。心肌组织经充分研磨后，采用 BCA 试剂盒定量测定总蛋白浓度。随后进行 SDS-PAGE 电泳分离蛋白样品，并通过半干转膜法将蛋白转移至 PVDF 膜。封闭完成后，使用 1×TBST 分别稀释特异性一抗：*ACSL1*、*SCD1*、*PPAR α* 、*Angptl4*、*CPT1 α* 、*PGC-1 α* 均按 1：1000 稀释，内参 $\beta\text{-actin}$ 按 1：5000 稀释，4 ℃ 孵育过夜。次日经 1×TBST 3 次洗涤后，以 1：10 000 比例稀释 HRP 标记二抗，室温孵育 60 min。再次完成 TBST 洗涤步骤后，采用 ECL 化学发光底物显影，通过凝胶成像系统采集图像。最终使用 Image Lab 6.1 软件进行定量分析，以 $\beta\text{-actin}$ 作为内参蛋白对各目的蛋白表达水平进行标准化处理。

1.6 统计学方法

应用软件 GraphPad Prism 9 进行数据统计分析, 计量资料均符合正态分布且方差齐, 以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD-*t* 检验, 以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠心功能指标比较

表 2 示, 与正常组比较, 模型组小鼠 LVEF、LVFS 值降低, LVIDd、LVIDs 值升高 ($P<0.05$); 与模型组比较, 各干预组小鼠 LVEF、LVFS 值升高, LVIDd、LVIDs 值降低 ($P<0.05$); 与参荬养心低剂量组比较, 参荬养心高剂量组及福辛普利钠组小鼠 LVEF、LVFS 值升高, 参荬养心高剂量组 LVIDs 值及福辛普利钠组 LVIDd、LVIDs 值降低 ($P<0.05$)。

2.2 各组小鼠心肌组织形态比较

图 1 示, 正常组小鼠心肌结构完整, 纤维排列整齐有序, 无肿胀和破裂现象, 心肌间微血管形态保持正常, 血管内膜、中膜未见增厚, 心肌中几乎无蓝色胶原纤维; 模型组小鼠心肌纤维排列呈现明显紊乱, 伴有广泛的间质水肿甚至局部坏死, 心肌间质和血管周围呈现大量相互连接成网络状的蓝色胶原纤维; 各干预组小鼠心肌组织上述病理学变化

均得到不同程度的改善, 其中参荬养心高剂量组与福辛普利钠组改善效果更为显著, 心肌纤维排列更接近正常组, 蓝色胶原纤维沉积少于参荬养心低剂量组。

2.3 各组小鼠心脏组织差异表达基因分析结果

上述结果显示, 参荬养心高剂量组改善心功能与心肌组织形态效果最佳, 故本部分研究选择参荬养心高剂量组进行分析。图 2A 示, 与正常组比较, 模型组小鼠心脏组织有 160 个基因上调, 153 个基因下调; 图 2B 示, 与模型组比较, 参荬养心高剂量组有 831 个基因上调, 391 个基因下调。

对参荬养心高剂量组与模型组差异表达的基因进行 GO 富集分析, 按照生物过程、细胞组分和分子功能进行 GO 分类, 挑选每个 GO 分类中 *P* 值最小即富集最显著的前 10 个条目进行展示 (图 2C)。对相应结果进行概括可见, 与模型组比较, 参荬养心高剂量组小鼠心脏组织的差异主要与微管相关复合物、细胞骨架和催化复合物等有关。

对模型组与参荬养心高剂量组差异基因进行 KEGG 通路分析。图 2D 示, 差异表达基因显著富集的信号通路主要包括 PPAR 信号通路、心肌收缩、氧化磷酸化和钙信号通路等; 根据参荬养心高剂量组与模型组 KEGG 富集散点图分析, 除代谢途径外, PPAR 信号通路信度值最高, 在本研究中可

表 2 各组小鼠心功能指标比较

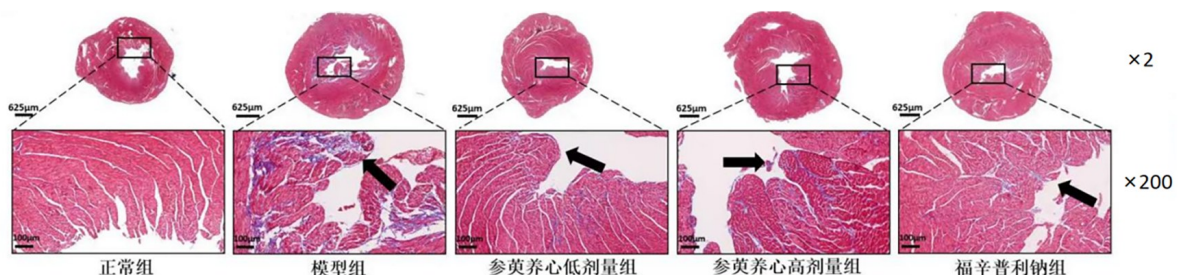
Table 2 Comparison of cardiac function in mice of each group

($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	LVEF/%	LVFS/%	LVIDd/mm	LVIDs/mm
正常组	10	71.25 $\pm$ 5.47	42.15 $\pm$ 3.04	2.21 $\pm$ 0.31	1.86 $\pm$ 0.26
模型组	10	37.61 $\pm$ 3.15 ^{a)}	24.32 $\pm$ 3.53 ^{a)}	3.16 $\pm$ 0.27 ^{a)}	2.55 $\pm$ 0.28 ^{a)}
参荬养心低剂量组	10	46.11 $\pm$ 5.76 ^{b)}	29.75 $\pm$ 3.14 ^{b)}	2.89 $\pm$ 0.26 ^{b)}	2.31 $\pm$ 0.22 ^{b)}
参荬养心高剂量组	10	55.54 $\pm$ 5.11 ^{b) c)}	35.15 $\pm$ 2.18 ^{b) c)}	2.68 $\pm$ 0.25 ^{b)}	2.18 $\pm$ 0.25 ^{b) c)}
福辛普利钠组	10	58.77 $\pm$ 4.22 ^{b) c)}	36.17 $\pm$ 3.38 ^{b) c)}	2.58 $\pm$ 0.29 ^{b) c)}	2.15 $\pm$ 0.22 ^{b) c)}

注: LVEF, 左室射血分数; LVFS, 左室短轴缩短率; LVIDd, 左室舒张末期内径; LVIDs, 左室收缩末期内径。

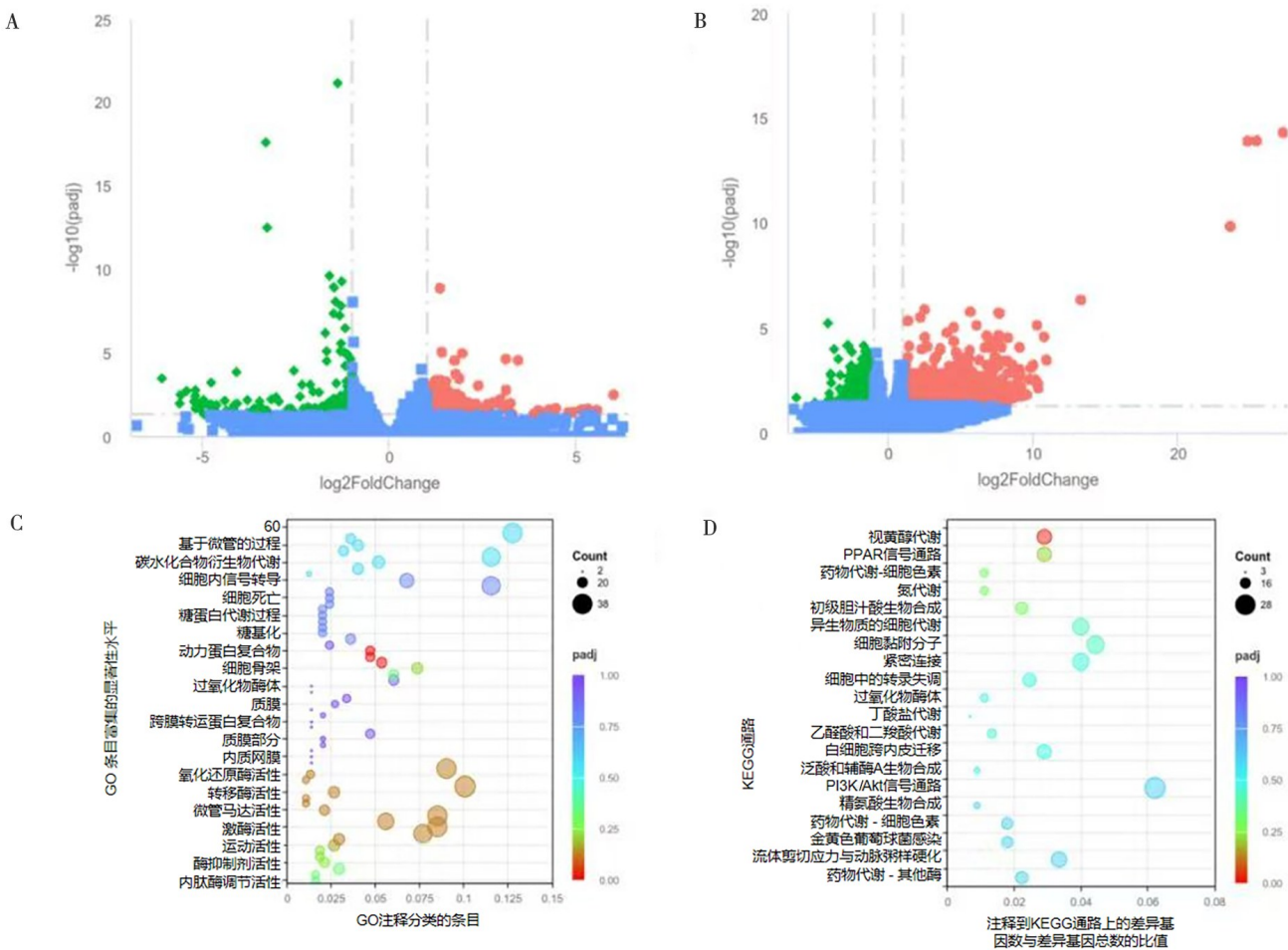
a) 与正常组比较, $P<0.05$; b) 与模型组比较, $P<0.05$; c) 与参荬养心低剂量组比较, $P<0.05$ 。



注: 黑色箭头示蓝色纤维化染色阳性区域。

图 1 各组小鼠心肌组织 Masson 染色结果

Figure 1 Masson staining result of myocardial tissue in each group of mice



注：A 为模型组与正常组比较的差异基因火山图；B 为参荊养心高剂量组与模型组比较的差异基因火山图；火山图中 2 条竖虚线为 2 倍表达差异阈值，横虚线为 DESeq2 padj = 0.05 阈值，红点表示该组上调基因，绿点表示该组下调基因，蓝点表示非显著差异表达基因；C 为参荊养心高剂量组与模型组比较的差异基因 GO 注释结果富集气泡图；D 为参荊养心高剂量组与模型组比较的差异基因 KEGG 富集散点图；GO，基因本体论；PPAR，过氧化物酶体增殖物激活受体；PI3K/Akt，磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B。

图 2 各组小鼠心脏组织差异表达基因分析结果

Figure 2 Analysis of differentially expressed genes in cardiac tissues of mice among different groups

能起到核心作用，后续实验选择该通路主要基因进行验证。

2.4 各组小鼠心脏组织 *ACSL1*、*SCD1*、*PPARα*、*Angptl4*、*CPT1α*、*PGC-1α* mRNA 表达比较

表 3 示，与正常组比较，模型组小鼠心脏组织 *ACSL1*、*SCD1*、*PPARα*、*Angptl4*、*CPT1α*、*PGC-1α* mRNA 表达降低 ($P < 0.05$)；与模型组比较，各干预组小鼠心脏组织 *ACSL1*、*SCD1*、*PPARα*、*Angptl4*、*CPT1α*、*PGC-1α* mRNA 表达升高 ($P < 0.05$)；与参荊养心低剂量组比较，参荊养心高剂量组与福辛普利钠组小鼠心脏组织 *ACSL1*、*SCD1*、*PPARα*、*CPT1α*、*PGC-1α* mRNA 表达升高，福辛普利钠组 *Angptl4* mRNA 表达亦升高 ($P < 0.05$)。

2.5 各组小鼠心脏组织 *ACSL1*、*SCD1*、*PPARα*、*Angptl4*、*CPT1α*、*PGC-1α* 蛋白水平比较

表 4 示，与正常组比较，模型组小鼠心脏组织 *ACSL1*、*SCD1*、*PPARα*、*Angptl4*、*CPT1α*、*PGC-1α* 的蛋白水平降低 ($P < 0.05$)；与模型组比较，各干预组小鼠心脏组织 *ACSL1*、*SCD1*、*PPARα*、*Angptl4*、*CPT1α*、*PGC-1α* 蛋白水平升高 ($P < 0.05$)；与参荊养心低剂量组比较，参荊养心高剂量组小鼠心脏组织 *SCD1* 和 *PPARα* 及福辛普利钠组 *SCD1*、*PPARα*、*Angptl4*、*PGC-1α* 蛋白表达升高 ($P < 0.05$)。各组小鼠心脏组织 *ACSL1*、*SCD1*、*PPARα*、*Angptl4*、*CPT1α*、*PGC-1α* 蛋白电泳图见图 3。

表 3 各组小鼠心脏组织 *ACSL1*、*SCD1*、*PPARα*、*Angptl4*、*CPT1α*、*PGC-1α* mRNA 表达比较

Table 3 Comparison of *ACSL1*, *SCD1*, *PPARα*, *Angptl4*, *CPT1α*, and *PGC-1α* mRNA in the heart tissues

among different groups of mice								($\bar{x} \pm s$)
组别	鼠数	<i>ACSL1</i>	<i>SCD1</i>	<i>PPARα</i>	<i>Angptl4</i>	<i>CPT1α</i>	<i>PGC-1α</i>	
正常组	6	6.23±2.12	7.24±0.95	5.68±2.09	8.91±1.84	7.41±2.21	4.69±1.78	
模型组	6	1.05±0.21 ^{a)}	1.00±0.05 ^{a)}	1.09±0.15 ^{a)}	0.98±0.23 ^{a)}	1.07±0.22 ^{a)}	1.01±0.09 ^{a)}	
参萸养心低剂量组	6	2.48±0.45 ^{b)}	3.28±1.15 ^{b)}	1.91±0.79 ^{b)}	3.40±0.33 ^{b)}	3.72±1.28 ^{b)}	2.31±0.75 ^{b)}	
参萸养心高剂量组	6	2.89±0.77 ^{b) c)}	3.98±1.28 ^{b) c)}	2.45±0.98 ^{b) c)}	4.14±1.05 ^{b)}	4.44±1.18 ^{b) c)}	2.89±0.99 ^{b) c)}	
福辛普利钠组	6	3.15±1.05 ^{b) c)}	4.12±2.23 ^{b) c)}	2.98±1.15 ^{b) c)}	5.15±1.49 ^{b) c)}	5.37±1.73 ^{b) c)}	3.36±1.12 ^{b) c)}	

注：*ACSL1*，长链脂酰辅酶 A 合成酶 1；*SCD1*，硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 1；*PPARα*，过氧化物酶体增殖物激活受体 α；*Angptl4*，血管生成素样蛋白 4；*CPT1α*，肉碱棕榈酰转位酶 1α；*PGC-1α*，过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子 1α。

a) 与正常组比较， $P<0.05$ ；b) 与模型组比较， $P<0.05$ ；c) 与参萸养心低剂量组比较， $P<0.05$ 。

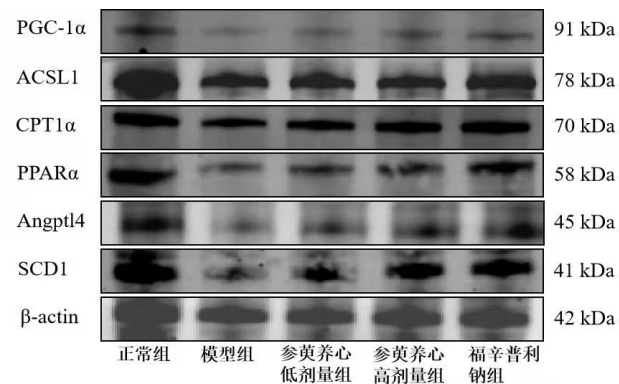
表 4 各组小鼠心脏组织 *ACSL1*、*SCD1*、*PPARα*、*Angptl4*、*CPT1α*、*PGC-1α* 蛋白表达比较

Table 4 Comparison of *ACSL1*, *SCD1*, *PPARα*, *Angptl4*, *CPT1α*, and *PGC-1α* proteins in the heart tissues

among different groups of mice								(/ β -actin, $\bar{x} \pm s$)
组别	鼠数	<i>ACSL1</i>	<i>SCD1</i>	<i>PPARα</i>	<i>Angptl4</i>	<i>CPT1α</i>	<i>PGC-1α</i>	
正常组	3	3.55±1.28	5.32±0.83	4.46±1.17	6.55±0.28	5.51±0.91	2.46±0.76	
模型组	3	1.05±0.47 ^{a)}	1.01±0.15 ^{a)}	0.99±0.76 ^{a)}	1.04±0.11 ^{a)}	1.07±0.22 ^{a)}	1.06±0.26 ^{a)}	
参萸养心低剂量组	3	1.89±0.95 ^{b)}	2.16±3.14 ^{b)}	1.89±1.12 ^{b)}	2.31±0.22 ^{b)}	3.12±0.46 ^{b)}	1.56±0.41 ^{b)}	
参萸养心高剂量组	3	2.85±0.71 ^{b)}	3.18±2.12 ^{b) c)}	2.68±1.25 ^{b) c)}	2.78±0.27 ^{b)}	3.44±0.32 ^{b)}	1.72±0.72 ^{b)}	
福辛普利钠组	3	2.66±0.84 ^{b)}	3.68±1.38 ^{b) c)}	2.98±1.29 ^{b) c)}	3.15±0.22 ^{b) c)}	4.12±1.05 ^{b)}	1.96±0.61 ^{b) c)}	

注：*ACSL1*，长链脂酰辅酶 A 合成酶 1；*SCD1*，硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 1；*PPARα*，过氧化物酶体增殖物激活受体 α；*Angptl4*，血管生成素样蛋白 4；*CPT1α*，肉碱棕榈酰转位酶 1α；*PGC-1α*，过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子 1α。

a) 与正常组比较， $P<0.05$ ；b) 与模型组比较， $P<0.05$ ；c) 与参萸养心低剂量组比较， $P<0.05$ 。



注：*PGC-1α*，过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子 1α；*ACSL1*，长链脂酰辅酶 A 合成酶 1；*CPT1α*，肉碱棕榈酰转位酶 1α；*PPARα*，过氧化物酶体增殖物激活受体 α；*Angptl4*，血管生成素样蛋白 4；*SCD1*，硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 1。

图 3 各组小鼠心脏组织 *ACSL1*、*SCD1*、*PPARα*、*Angptl4*、*CPT1α*、*PGC-1α* 蛋白电泳图

Figure 3 Electrophoresis images of *ACSL1*, *SCD1*, *PPARα*, *Angptl4*, *CPT1α*, and *PGC-1α* proteins in the heart tissues among different groups of mice

3 讨论

心力衰竭是各类心血管疾病的严重阶段和终末表现，病死率高^[1]。中医学认为，心为君主之官，主身之血脉。若诸类病因影响及心，致心气虚弱，心气虚则其行血功能下降，血行不畅则致血瘀。血

不利则为水，瘀和水是心力衰竭最常见的病理产物，瘀水互结，易进一步损伤心气，最终损及心阳、心阴^[12]，气血衰败，发展为心力衰竭。因此，其病机归纳为气不足、鼓动无力、血行不畅^[13]。参萸养心胶囊方中以红参为君，丹参和山萸肉共为臣药。《本草新编》言：“丹参与人参配伍，既能养血活血，又能补气生血，使气血相生。”红参大补心之阳气，山萸肉固脱生津，丹参清心之瘀血，三药合用，其益气活血利水之效更佳。本研究结果显示，参萸养心胶囊在改善心功能和抗心肌纤维化方面作用确切，为心力衰竭的治疗提供了实验依据。

近年来，基于转录组学的研究方法为深入了解中医药干预机制和治疗靶点提供了新的途径^[14]。因此，本研究通过转录组测序技术揭示参萸养心胶囊的宏观调控情况。与模型组比较，参萸养心高剂量组 831 个基因上调、391 个基因下调。KEGG 通路富集结果表明，差异表达基因显著富集的信号通路主要包括 PPAR 信号通路、心肌收缩、氧化磷酸化和钙信号通路等。心力衰竭时由于脂肪酸积蓄，过量的脂肪酸对心肌细胞有毒性作用^[15]。PPAR 的活化可以改善心力衰竭，主要体现在减轻脂肪酸对心肌的毒性作用。PPAR 相关基因主要在脂肪细胞

表达,其活化后,脂肪细胞对脂肪酸的摄取、甘油三酯的合成和贮存增加,并提高机体对胰岛素的敏感性,增强骨骼肌线粒体 β -氧化,增加外周脂肪酸代谢,减少心脏的脂肪酸供应,降低心肌内脂肪酸储量而减轻脂毒性^[16]。综上所述,参萸养心胶囊治疗心力衰竭的作用机制可能与调控能量代谢、抑制炎症反应和细胞凋亡等有关。

研究^[17]显示,心脏60%~90%的能量由脂肪酸氧化提供,心力衰竭时代谢底物发生重构,脂肪酸代谢障碍,堆积增多,影响线粒体功能和呼吸链,抑制糖酵解,导致能量难以满足心肌的代谢需求,能量代谢重构加重心肌病理重构,最终致心功能恶化。*ACSL1*是参与脂肪酸代谢的重要mRNA,能够将长链脂肪酸从细胞质中转运入线粒体进行 β -氧化过程,生成大量的三磷酸腺苷,为细胞提供所需的能量^[18]。*SCD1*是附着在内质网的催化饱和脂肪酸向不饱和脂肪酸转化的关键代谢酶^[19]。*Angptl4*在心肌组织中广泛表达,在糖脂代谢过程中发挥着重要作用,能够促进微血管新生、保护微血管内皮细胞结构和功能^[19]。*PGC-1 α* 是一种可与多种核受体和转录因子结合的重要转录共激活因子,可调节核受体和转录因子的活性,如通过激活PPAR α 等核受体,促进脂肪酸 β -氧化过程,从而提高细胞能量生产^[20]。PPAR α 是一种配体激活的转录因子,能促进CPT1 α 的表达,促进长链脂肪酸在线粒体中氧化代谢,从而为细胞供能^[21]。CPT1 α 是脂肪酸进入线粒体进行 β -氧化的限速酶,负责将脂肪酸转运到线粒体内进行 β -氧化。PGC1 α /PPAR α /CPT1 α 通路调控了线粒体脂肪酸 β -氧化^[22]。本研究结果发现,与正常组比较,模型组小鼠心脏组织中上述6种基因的mRNA及蛋白表达水平显著降低,提示这些基因可能参与了心力衰竭的病理进程,而参萸养心胶囊的干预显著改善了病理进程及基因和蛋白表达。

综上所述,本研究利用转录组学技术筛选出参萸养心胶囊潜在的作用靶点,并对其进行验证,其干预心力衰竭的潜在作用靶点可能与调控*ACSL1*、*SCD1*、PPAR α 、*Angptl4*、CPT1 α 和*PGC-1 α* mRNA及编码的蛋白有关。本研究仍存在一定局限性有待完善:缺乏如PPAR α 基因敲除等实验,未能直接证实筛选出的靶点及通路与参萸养心胶囊抗心力衰竭效应之间的因果关系;实验的样本量相对较小,可能影响结果的统计学效力,需扩大样本量重复实验以提高结果的可靠性。

参考文献

- [1]国家心血管病中心,国家心血管病专家委员会心力衰竭专业委员会,中国医师协会心力衰竭专业委员会,等.国家心力衰竭指南2023(精简版)[J].中国循环杂志,2023,38(12):1207-1238.
- [2]ZHANG Z, LI DA, ZHAO JM, et al. Heart failure prognosis risk assessment model based on multimodal data fusion and IoT device monitoring[J]. Alex Eng J, 2025, 127: 722-732. doi: 10.1016/J. AEJ. 2025. 04. 066.
- [3]LÓPEZ B, RAVASSA S, MORENO MU, et al. Diffuse myocardial fibrosis: mechanisms, diagnosis and therapeutic approaches[J]. Nat Rev Cardiol, 2021, 18(7): 479-498.
- [4]李杨,孙筱璐,秦俭,等.急诊科急性心肌梗死后并发急性心力衰竭患者远期预后及其影响因素研究[J].中国临床医生杂志,2021,49(4):408-414.
- [5]中华中医药学会慢性心力衰竭中医诊疗指南项目组.慢性心力衰竭中医诊疗指南(2022年)[J].中医杂志,2023,64(7):743-756.
- [6]袁良,戴小华.浅析益气温阳活血利水法治疗慢性心力衰竭[J].光明中医,2024,39(13):2720-2722.
- [7]罗钢,杨廷富,杨思进.参萸养心胶囊抗心肌纤维化作用机制[J].西南医科大学学报,2022,45(3):256-261.
- [8]REBROVA TY, KOREPANOV VA, TEPANOV IV, et al. Modeling of isoproterenol-induced chronic heart failure in 24-month-old rats[J]. Bull Exp Biol Med, 2024, 178(1): 30-33.
- [9]CHANG SC, REN SX, RAU CD, et al. Isoproterenol-induced heart failure mouse model using osmotic pump implantation[J]. Methods Mol Biol, 2018, 1816: 207-220. doi: 10.1007/978-1-4939-8597-5_16.
- [10]王小平,王进华,宁晓然,等.高频超声心动图评价异丙肾上腺素造模大鼠心脏结构及心功能改变的实验研究[J].河北医药,2008,30(3):261-263.
- [11]叶强,查克岚,杨锐雪,等.沙库巴曲缬沙坦对心肌梗死后心力衰竭大鼠室性心律失常的影响及其机制[J].西南医科大学学报,2023,46(2):135-140.
- [12]王宇馨,陈春妹,宋庆桥.546例慢性心力衰竭患者远期预后与中医证素特征的相关性研究[J].广州中医药大学学报,2025,42(6):1306-1313.
- [13]孙光伟,崔洪涛,孙文瑞.心力衰竭中医病因病机探微[J].吉林中医药,2023,43(12):1384-1386.
- [14]董艳,李军,张振鹏,等.中药作用靶点及分子机制的转录组学研究思路与方法[J].世界中医药,2023,18(14):2081-2087.
- [15]DALY LDA, CABODEVILLA AG, GOLDBERG IJ, et al. Cardiac lipid metabolism, mitochondrial function, and heart failure[J]. Cardiovasc Res, 2023, 119(10): 1905-1914.
- [16]LEE J, MOON JH. Targeting cardiac fibrosis in diabetic

- heart failure: the role of the EZH2, AMPK, and PPAR- γ pathways (diabetes metab J 2024; 48: 716-29) [J]. Diabetes Metab J, 2024, 48(6): 1176-1178.
- [17] 黄磊, 李文文, 翁培文, 等. 代谢重编程在心力衰竭中的研究进展[J]. 中国药理学通报, 2024, 40(8): 1418-1423.
- [18] YANG M, GE J, LIU YL, et al. Sortilin-mediated translocation of mitochondrial ACSL1 impairs adipocyte thermogenesis and energy expenditure in male mice [J]. Nat Commun, 2024, 15(1): 7746.
- [19] ASENZI F, DE VITIS C, MAUGERI-SACCÀ M, et al. SCD1, autophagy and cancer: implications for therapy [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2021, 40(1): 265.
- [20] WAN MX, LI Q, XIAO YD, et al. Gut microbiota from *Mori fructus* (*Morus alba* L.) polyphenols and polysaccharides-dosed mice activates the PPAR α /PGC-1 α signaling pathway to mitigate HFD-induced metabolic syndrome in mice [J]. Sci Rep, 2025, 15(1): 28137.
- [21] SINGH A, CHAUDHARY R. Potentials of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) α , β/δ , and γ : an in-depth and comprehensive review of their molecular mechanisms, cellular signalling, immune responses and therapeutic implications in multiple diseases [J]. Int Immunopharmacol, 2025, 155: 114616. doi: 10.1016/j.intimp.2025.114616.
- [22] ZHU W, XU H, YAN R, et al. Licochalcone A ameliorates lipid accumulation in metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease via upregulating PPAR α /CPT1 α [J]. Histol Histopathol, 2025: 18907. doi: 10.14670/HH-18-907.

Mechanism of Action of *Shenyu Yangxin Capsules* (参萸养心胶囊) in Treatment of Heart Failure: Based on Transcriptomics and Experimental Validation

LIU Mengnan, ZHANG Dingshan, WU Hao, WAN Zhenxun, LAN Qi, SONG Menglin, LUO Gang, CHEN Li

School of Integrated Traditional and Western Medicine, Affiliated Hospital of Traditional Chinese Medicine, Southwest Medical University, Luzhou, 646000

ABSTRACT Objective To explore the mechanism of action of *Shenyu Yangxin Capsules* (参萸养心胶囊) for heart failure based on transcriptomics and experimental validation. **Method** Fifty C57BL/6 mice were randomly divided into a normal group (0.9% sodium chloride solution treatment), a model group (isoproterenol treatment), a low-dose *Shenyu Yangxin* group (1.56 g/kg *Shenyu Yangxin Capsules* treatment), a high-dose *Shenyu Yangxin* group (6.24 g/kg *Shenyu Yangxin Capsules* treatment), and a sodium fosinopril group (2.6 mg/kg sodium fosinopril treatment), with 10 mice in each group. All groups except the normal group were established as heart failure mouse models through intradermal injection of isoproterenol solution (5 mg $\cdot$ kg $^{-1}\cdot$ d $^{-1}$) via the dorsal subcutaneous site. Starting from the first day of modeling, corresponding doses of the drug were administered via gavage daily for 28 consecutive days. Cardiac function was monitored using echocardiography, and cardiac tissue morphology was observed through Masson staining on the day after the last time administration; transcriptomic sequencing was employed to identify differentially expressed genes across groups, with validation of mRNA and protein expression levels of key differentially expressed genes conducted through real-time quantitative PCR and Western Blotting. **Results** Compared with the normal group, the left ventricular ejection fraction (LVEF) and left ventricular short-axis shortening rate (LVFS) values of the model group mice decreased, while the left ventricular end diastolic diameter (LVIDd) and left ventricular end systolic diameter (LVIDs) values increased ($P<0.05$), the cardiac cell clearance structure was disordered, and the blue stained collagen fibers increased. Compared with the model group, echocardiographic analysis of mice in all treatment groups showed an increase in LVEF and LVFS values, and a decrease in LVIDd and LVIDs values ($P<0.05$), and the cardiomyopathological changes were improved to varying degrees. Compared with the model group, the high-dose group showed 831 upregulated genes and 391 downregulated genes. Through GO and KEGG analyses, peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) signaling pathway was identified as the key pathway, with ACSL1, SCD1, PPAR α , Angptl4, CPT1 α , and PGC-1 α being the key differentially expressed genes. Compared with the normal group, the mRNA and protein levels of ACSL1, SCD1, PPAR α , Angptl4, CPT1 α , and PGC-1 α in cardiac tissues of model group mice significantly reduced ($P<0.05$); compared with the model group, all intervention groups showed increased expression levels of these biomarkers in cardiac tissues compared to the model group ($P<0.05$). Compared to low-dose *Shenyu Yangxin* group, the mice in high-dose *Shenyu Yangxin* group demonstrated elevated mRNA and protein expression levels of ACSL1, SCD1, PPAR α , CPT1 α , and PGC-1 α in cardiac tissues ($P<0.05$). **Conclusion**

Shenyu Yangxin Capsules may treat heart failure by improving myocardial fibrosis and regulating the expression of ACSL1, SCD1, PPAR α , Angptl4, CPT1 α , and PGC-1 α genes and proteins.

Keywords heart failure; *Shenyu Yangxin Capsules* (参萸养心胶囊); transcriptomics; peroxisome proliferator-activated receptor signaling pathway

(收稿日期: 2025-06-05; 修回日期: 2025-08-01)

[编辑: 金超]