

隐丹参酮通过抑制炎症改善糖尿病心肌病小鼠的心功能

徐达

浙江省诸暨市人民医院内分泌科

DOI:10.32629/bmtr.v8i2.18923

[摘要] 目的:探究隐丹参酮(cryptotanshinone, CTS)对糖尿病心肌病(Diabetic Cardiomyopathy, DCM)小鼠的保护作用。方法:将 C57BL/6 小鼠分为对照组、模型组、低剂量 CTS 组 (15 mg/kg) 和高剂量 CTS 组 (30 mg/kg), 通过链脲佐菌素联合高脂饮食构建 DCM 小鼠模型, 予腹腔注射 CTS 治疗 14 天。采用心脏超声评估心功能, ELISA 检测血清炎症因子水平, Western blot 检测心肌组织中炎症因子蛋白表达。结果:与模型组相比, CTS 治疗剂量依赖性地改善 DCM 小鼠左室射血分数和短轴缩短率 ($P < 0.05$), 降低血清及心肌组织中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 表达水平 ($P < 0.05$)。结论:CTS 通过抑制炎症反应改善 DCM 小鼠的心脏功能。

[关键词] 隐丹参酮; 糖尿病心肌病; 心脏功能; 炎症反应

中图分类号: R5 文献标识码: A

Cryptotanshinone Attenuates Cardiac Dysfunction in Diabetic Cardiomyopathy by Inhibiting Inflammatory Responses

Da Xu

Department of Endocrinology, Zhuji People's Hospital of Zhejiang Province

[Abstract] Objective: Investigate the cardioprotective effects of cryptotanshinone (CTS) in a mouse model of Diabetic Cardiomyopathy (DCM). Methods: Male C57BL/6 mice were assigned to four groups: control, model, low-dose CTS (15 mg/kg), and high-dose CTS (30 mg/kg). A DCM model was established via streptozotocin injection combined with a high-fat diet. CTS was administered intraperitoneally for 14 consecutive days. Cardiac function was evaluated by echocardiography. Serum levels of inflammatory cytokines were measured using ELISA, and their protein expression in myocardial tissue was assessed by Western blot. Results: Compared with the model group, CTS treatment dose-dependently improved left ventricular ejection fraction and fractional shortening in DCM mice ($P < 0.05$). In addition, CTS significantly reduced the expression levels of IL-1 β , IL-6, and TNF- α in both serum and myocardial tissue ($P < 0.05$). Conclusion: CTS alleviates cardiac dysfunction in DCM mice by suppressing inflammatory responses.

[Key words] Cryptotanshinone; Diabetic cardiomyopathy; Cardiac function; Inflammation

引言

糖尿病心肌病 (diabetic cardiomyopathy, DCM) 是一种由糖尿病引起的, 独立于高血压性心脏病、冠心病等疾病的特异性心肌病变。目前, DCM 已成为导致糖尿病患者心力衰竭和死亡的主要原因之一^[1]。DCM 的临床治疗主要围绕血糖控制和心衰的常规管理^[2]。然而, 这些干预措施仅能延缓疾病进展, 无法逆转已发生的心肌重构, 患者远期预后仍不理想。因此, 寻找 DCM 有效的干预药物具有重要的临床意义。

近年来, 炎症反应被证实是 DCM 发生发展的核心驱动因素之一^[3]。高糖环境可诱导心肌细胞产生活性氧簇, 激活多种炎症信号通路, 进而促进肿瘤坏死因子 α (tumor

necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 和白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6) 等促炎因子的转录和释放^[4]。这些炎症因子不仅直接损伤心肌细胞, 还可通过激活成纤维细胞促进心肌间质纤维化, 导致心室顺应性下降和舒张功能障碍^[5]。DCM 患者体内的炎症反应程度与全身代谢异常及心肌细胞功能障碍密切相关, 提示靶向炎症反应可能是治疗 DCM 的有效策略。

隐丹参酮 (cryptotanshinone, CTS) 是从传统中药丹参中提取的主要脂溶性二萜醌类化合物^[6]。CTS 具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、抗菌等多种生物活性^[7]。Wang 等人发现 CTS 可通过抑制肠道炎症减轻葡聚糖硫酸钠诱导的溃疡性结肠炎^[8]; Song 等人报道 CTS 通过调节炎症、血管生成和细胞

外基质重构促进2型糖尿病小鼠创面愈合^[9]；Wang等人证实CTS可改善妊娠期糖尿病小鼠胎盘的氧化应激损伤和炎症反应^[10]。上述研究提示CTS主要通过其抗炎作用发挥保护效应。

考虑到炎症反应在DCM发病中的核心地位，以及CTS明确的抗炎活性，本研究认为CTS可能通过抑制炎症反应改善DCM小鼠的心脏功能。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

8周龄雄性C57BL/6小鼠，体重20-25g，购自浙江维通利华实验动物技术有限公司[许可证号：SCXK(浙)2023-0001]。小鼠饲养于清洁环境中，温度 $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ ，湿度 $50\pm 10\%$ ，12小时光照/12小时黑暗循环，自由进食饮水。

1.1.2 主要试剂与抗体

隐丹参酮(纯度 $\geq 98\%$)、链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)购自美国Sigma-Aldrich公司；IL-1 β 、IL-6、TNF- α ELISA试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司；兔抗小鼠IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、GAPDH单克隆抗体及HRP标记的山羊抗兔二抗购自美国Cell Signaling Technology公司；BCA蛋白定量试剂盒、ECL化学发光液购自上海碧云天生物技术有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 DCM小鼠模型建立与分组

采用STZ联合高脂饮食诱导DCM模型。小鼠适应性喂养1周后，随机分为4组(n=6/组)：对照组、模型组、低剂量CTS组(CTS-L, 15 mg/kg/d)、高剂量CTS组(CTS-H, 30 mg/kg/d)。除对照组外，其余各组小鼠连续5天腹腔注射STZ(50 mg/kg, 溶于0.1 mol/L柠檬酸缓冲液, pH 4.5)，对照组注射等体积柠檬酸缓冲液。注射后第7天尾静脉采血检测空腹血糖，血糖 ≥ 16.7 mmol/L者视为糖尿病模型建立成功。随后，模型组和CTS治疗组小鼠给予高脂高胆固醇饲料(含21%乳脂、0.2%胆固醇)喂养14周，对照组给予普通饲料喂养。造模完成后，CTS-L和CTS-H组分别腹腔注射相应剂量CTS(溶于含1% DMSO的生理盐水)，每日1次，连续14天；对照组和模型组注射等体积溶媒。

1.2.2 心功能检测

采用Vevo 2100小动物超声成像系统检测小鼠心功能。小鼠经异氟烷吸入麻醉后，取左心室长轴切面和短轴切面，测量并计算各组小鼠的左室射血分数(LVEF)和左室短轴缩短率(LVFS)。

1.2.3 组织样本采集

麻醉小鼠后眼球取血。室温静置30分钟后， 4°C 、3000

rpm离心15分钟分离血清， -80°C 保存备用。迅速开胸取出心脏，用预冷PBS冲洗干净，滤纸吸干后称重。心脏组织液氮速冻后转移至 -80°C 保存，用于分子生物学检测。

1.2.4 血清炎症因子检测

采用ELISA法检测小鼠血清中IL-1 β 、IL-6、TNF- α 表达水平。严格按照ELISA试剂盒说明书中的步骤操作，酶标仪测定450 nm处吸光度值，根据标准曲线计算样品浓度。

1.2.5 Western blot检测

取心肌组织，加入RIPA裂解液(含蛋白酶抑制剂)提取总蛋白，BCA法测定蛋白浓度。取30 μg 蛋白经电泳分离后，转移至PVDF膜。5%脱脂奶粉室温封闭1小时，加入相应一抗， 4°C 孵育过夜。TBST洗涤3次后，加入HRP标记的二抗，室温孵育1小时。ECL化学发光法显影，Image J软件分析条带灰度值，以GAPDH为内参计算目的蛋白相对表达量。

1.2.6 统计学分析

采用SPSS 25.0软件进行统计分析。计量资料以均值 \pm 标准差表示，多组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA)，组间两两比较采用LSD-t检验。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CTS改善DCM小鼠心功能

超声心动图检测结果显示，与对照组相比，模型组小鼠LVEF和LVFS显著降低(P<0.05)。与模型组相比，CTS-L组和CTS-H组LVEF和LVFS均显著升高(P<0.05)，且呈剂量依赖性。

表1 各组小鼠心功能指标比较

项目	对照组	模型组	CTS-L组	CTS-H组	F	P
LVEF(%)	61.84 \pm 2.30	41.44 \pm 2.04*	49.61 \pm 1.68#	56.61 \pm 2.01#	114.957	<0.05
LVFS(%)	36.49 \pm 0.87	19.81 \pm 1.17*	26.76 \pm 1.17#	32.47 \pm 1.37#	233.728	<0.05

注：LVEF：左室射血分数，LVFS：左室短轴缩短率；与对照组比较，*P<0.05；与模型组比较，#P<0.05。

2.2 CTS抑制DCM小鼠体内炎症反应

ELISA检测结果显示，模型组小鼠血清IL-1 β 、IL-6和TNF- α 水平均显著高于对照组(P<0.05)。CTS治疗可剂量依赖性降低上述炎症因子表达水平，见表2。

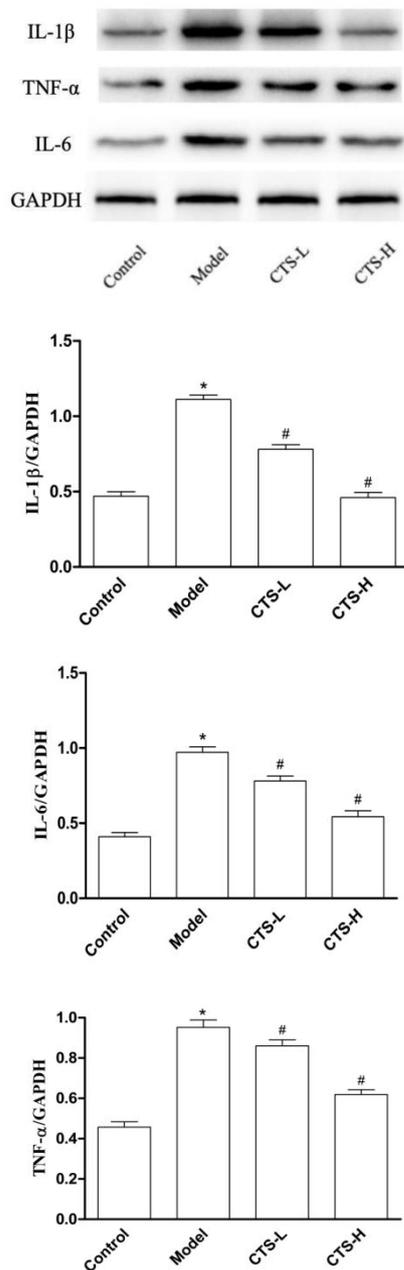
表2 各组小鼠血清炎症因子水平比较

项目	对照组	模型组	CTS-L组	CTS-H组	F	P
IL-1 β (ng/L)	12.04 \pm 3.25	39.63 \pm 4.79*	31.23 \pm 3.82#	23.96 \pm 3.82#	52.284	<0.05
IL-6 (ng/L)	38.23 \pm 4.72	89.99 \pm 3.93*	64.69 \pm 4.53#	58.48 \pm 4.93#	132.323	<0.05
TNF- α (ng/L)	30.48 \pm 6.94	64.76 \pm 5.42*	55.56 \pm 6.87#	48.02 \pm 4.24#	35.514	<0.05

注：与对照组比较，*P<0.05；与模型组比较，#P<0.05。

Western blot检测结果显示，模型组小鼠心肌组织中炎症

因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 蛋白表达水平均显著高于对照组 ($P < 0.05$)。CTS 治疗可剂量依赖性降低上述炎症因子的蛋白表达水平, 见图 1。



注: 与对照组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, # $P < 0.05$ 。

图 1 炎症因子蛋白表达水平

3 讨论

本研究结果表明: CTS 可显著改善 DCM 小鼠的心脏功能, 抑制糖尿病导致的心肌重构; CTS 可抑制 DCM 小鼠体内和心肌组织中炎症因子表达。由此可见, CTS 可能通过其抗炎作用对 DCM 小鼠发挥保护作用。

炎症反应在 DCM 的发生发展中扮演着重要角色。研究

发现, 高糖环境可通过多种途径激活心肌细胞内的炎症信号网络, 导致促炎因子的大量释放^[1]。这些炎症因子可对心脏结构和功能产生多维度损害: IL-1 β 可诱导心肌细胞肥大和凋亡, 抑制心肌收缩功能; IL-6 通过激活 JAK/STAT 通路促进成纤维细胞增殖和胶原合成; TNF- α 则直接抑制心肌细胞钙瞬变, 降低收缩力, 同时诱导基质金属蛋白酶表达失衡, 促进细胞外基质重构^[12]。本研究观察到模型组小鼠 LVEF 下降, 与上述病理作用相吻合。本研究发现 DCM 小鼠的炎症反应呈现系统性 (血清) 和局部性 (心肌组织) 双重升高。这意味着针对炎症的干预策略可能同时改善心脏局部病变和全身代谢状态, 产生综合治疗效果。

CTS 是从传统中药丹参 (*Salvia miltiorrhiza* Bunge) 中提取的主要脂溶性二萜醌类化合物。Lim 等人报道 CTS 通过抑制肠道炎症减轻溃疡性结肠炎, 其作用与下调 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 表达相关^[13]; Li 等人发现 CTS 促进糖尿病创面愈合与其抗炎作用密不可分^[14]; Liu 等人证实 CTS 改善妊娠期糖尿病胎盘炎症反应^[15]。在本研究中, CTS 治疗后 DCM 小鼠血清和心肌组织中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的水平显著降低。同时, 本研究发现 CTS 治疗可显著改善 DCM 小鼠的心脏功能, 抑制心肌重构, 从而改善 DCM 小鼠的预后。

从药物化学角度分析, CTS 的抗炎作用可能与其分子结构密切相关。CTS 属于二萜醌类化合物, 其分子中的邻醌结构具有捕获自由基的能力, 可能通过清除高糖环境产生的 ROS 间接抑制炎症反应^[16]。本研究虽未深入探讨 CTS 抗炎的具体信号通路, 但为后续机制研究提供了重要的表型基础。

4 结论

CTS 可显著改善 DCM 小鼠心功能, 其作用机制可能与抑制体内炎症反应有关。本研究揭示了 CTS 治疗 DCM 的新适应症, 且为 DCM 的临床治疗提供了新的候选药物和理论依据。

[参考文献]

- [1]位晨晨, 钟明. 糖尿病心肌病的发病机制[J]. 心血管病学进展, 2020, 41(2): 135-139.
- [2]陈艳艳, 周洁, 卢作维, 等. 糖尿病心肌病发病机制及治疗研究进展[J]. 解放军医学杂志, 2023, 48(8): 957-964.
- [3]黄芷祺, 宁一博, 贺润铖, 等. NLRP3 炎性小体与糖尿病心肌病的发生发展[J]. 中国药理学通报, 2021, 37(4): 463-467.
- [4]焦向英, 王晓樑, 马新亮, 等. 高糖高脂对培养成年小鼠心肌细胞的氧化应激损伤[J]. 中国循环杂志, 2009, 24(1): 64-67.
- [5]周子默, 周驰, 杨雅元, 等. 心肌纤维化的发病及治疗研究进展[J]. 湖北科技学院学报: 医学版, 2022, 36(5): 452-456.
- [6]赵杨, 陆茵, 郑仕中, 等. 隐丹参酮的药理作用研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(11): 1839-1841.

[7]Wu YH,Wu YR,Li B,et al.Cryptotanshinone: a review of its pharmacology activities and molecular mechanisms[J].Fitoterapia,2020,145:104633.

[8]Wang J,Guan JY.Cryptotanshinone regulates the inflammatory response in neonatal necrotizing enterocolitis rats by the JAK2/STAT3 signaling pathway[J].Current Immunology,2025,45(3):311–316.

[9]Song H,Jiang L,Yang W,etal.Cryptotanshinone alleviates lipopolysaccharide and cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease in mice via the Keap1/Nrf2 axis[J].Biomed Pharmacother,2023,165(2):115105–115116.

[10]Wang S,Sun L,Zhu Z,et al.Cryptotanshinone alleviates myocardial ischemia and reperfusion injury in rats to mitigate ER stress-dependent apoptosis by modulating the JAK1/STAT3 axis[J].Am J Transl Res,2022,14(7):5024–5039.

[11]赵一楠,周迎生.糖尿病性心肌病的研究进展[J].中国糖尿病杂志,2016,24(4):381–384.

[12]庄儒麟,周晓慧,范慧敏,等.干预炎症反应改善糖尿病心肌病的作用研究进展[J].中国循环杂志,2018,33(11):92–94.

[13]Lim Y, Song TJ, Hwang W, et al. Synergistic effects of Sanghuang–Danshen bioactives on arterial stiffness in a randomized clinical trial of healthy smokers: an integrative approach to in silico network analysis [J].Nutrients,2019,11(1):108.

[14]Li H,Gao C,Liu C,et al.A review of the biological activity and pharmacology of cryptotanshinone, an important active constituent in Danshen[J].Biomed Pharmacother,2021,137: 111332.

[15]Liu H,Zhan X,Xu G,et al.Cryptotanshinone specifically suppresses NLRP3 inflammasome activation and protects against inflammasome-mediated diseases[J].Pharmacol Res,2021,164: 105384.

[16]Zheng Z,Ke L,Ye S,et al.Pharmacological mechanisms of cryptotanshinone: recent advances in cardiovascular, cancer, and neurological disease applications[J].Drug Des Devel Ther,2024,18:6031–6060.

作者简介：

徐达（1986.11-），男，汉族，浙江省诸暨市人民医院，本科，主治医师，研究方向为内分泌科。

基金项目：

诸暨市医药卫生科技计划项目：2023YW047。