

[药 理]

基于 TLR4/MyD88/NF-κB 信号通路探讨芪附益心颗粒对心力衰竭大鼠心脏炎症状态的影响

李倩蓉^{1,2}, 支晓东^{1,2,3}, 蒋 兵^{1,2}, 王春玲^{1,2}, 任春贞^{1,2}, 赵信科^{1,2,3}, 刘 凯⁴,
李应东^{1,2,3*}

(1. 甘肃中医药大学中西医结合学院, 甘肃 兰州 730000; 2. 甘肃省中医药防治慢性病重点实验室, 甘肃 兰州 730000; 3. 甘肃中医药大学附属医院, 甘肃 兰州 730000; 4. 甘肃医学院临床医学院, 甘肃 平凉 744000)

摘要: **目的** 探讨芪附益心颗粒对心力衰竭大鼠心脏炎症状态的影响。**方法** 大鼠以腹腔注射阿霉素法诱导 6 周建立慢性心力衰竭 (CHF) 模型, 将造模成功的大鼠随机分为模型组、卡托普利组 (22.5 mg/kg) 和芪附益心颗粒低、中、高剂量组 (2.84、5.67、11.34 g/kg), 另取正常不造模的大鼠作为空白组。观察大鼠体质量变化; 超声心动图检测心功能; ELISA 法检测血清 NT-proBNP、TNF-α、IL-6、IL-1、CRP 水平; HE 及 Masson 染色观察心肌组织形态学变化; 免疫组化及 Western blot 法检测心肌组织 TLR4、MyD88、NF-κB 蛋白表达; RT-qPCR 法心肌组织 *TLR4*、*MyD88*、*NF-κB* mRNA 表达。**结果** 与空白组比较, 模型组大鼠体质量和 LVEF、LVFS 值降低 ($P<0.01$), LVEDD、LVESD 值和血清 NT-proBNP、TNF-α、IL-6、IL-1、CRP 水平均升高 ($P<0.01$); 心肌组织有炎性细胞聚集, 胶原纤维沉积增加 ($P<0.01$); 心肌组织 TLR4、MyD88、NF-κB 蛋白和 mRNA 表达均升高 ($P<0.01$)。与模型组比较, 卡托普利组和芪附益心颗粒中、高剂量组大鼠体质量和 LVEF、LVFS 值升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), LVEDD、LVESD 值和血清 NT-proBNP、TNF-α、IL-6、IL-1、CRP 水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$); 炎性浸润减少, 胶原纤维沉积减少 ($P<0.05$, $P<0.01$); 心肌组织 TLR4、MyD88、NF-κB 蛋白和 mRNA 表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 芪附益心颗粒可减轻阿霉素致慢性心力衰竭大鼠心脏炎症, 改善心功能, 其作用机制可能与抑制 TLR4/MyD88/NF-κB 信号通路活化有关。

关键词: 芪附益心颗粒; 心力衰竭; 炎症; TLR4/MyD88/NF-κB 信号通路

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2025)08-2535-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.08.008

Modulation of cardiac inflammation by Qifu Yixin Granules in rats with heart failure via TLR4/MyD88/NF-κB signaling pathway

LI Qian-rong^{1,2}, ZHI Xiao-dong^{1,2,3}, JIANG Bing^{1,2}, WANG Chun-ling^{1,2}, REN Chun-zhen^{1,2},
ZHAO Xin-ke^{1,2,3}, LIU Kai⁴, LI Ying-dong^{1,2,3*}

(1. College of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China; 2. Gansu Provincial Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine for the Prevention and Treatment of Chronic Diseases, Lanzhou 730000, China; 3. The Affiliated Hospital of Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China; 4. School of Clinical Medicine, Gansu Medical College, Pingliang 744000, China)

ABSTRACT: **AIM** To investigate the effects of Qifu Yixin Granules on cardiac inflammation in a rat model of heart failure. **METHODS** The rats were induced into chronic heart failure (CHF) models by 6-week intraperitoneal injection of doxorubicin followed by the random assignment of the successful rat models into the

收稿日期: 2024-09-09

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82260869, 82360926); 甘肃教育解绑挂帅项目 (2021jyjbgs-03); 甘肃省中医药防治重大疾病专项 (CZKZD-2018-02); 甘肃省科技重大专项 (20ZD7FA002)

作者简介: 李倩蓉 (1998—), 女, 博士生, 从事中西医结合防治心血管系统疾病的研究。Tel: 18893708098, E-mail: 18893708098@163.com

*** 通信作者:** 李应东 (1962—), 男, 博士, 教授, 从事中西医结合防治心血管系统疾病的研究。Tel: 13893186919, E-mail: lydj412@163.com

model group, the captopril group (22.5 mg/kg), and the low-dose, medium-dose, and high-dose Qifu Yixin Granules groups (2.84, 5.67, 11.34 g/kg), in contrast to the normal rats of the blank group. The rats had their body weight monitored; their cardiac function assessed by echocardiography; their serum levels of NT-proBNP, TNF- α , IL-6, IL-1 and CRP measured by ELISA; their cardiac morphological alterations observed by HE and Masson staining; their cardiac protein expressions of TLR4, MyD88 and NF- κ B detected by immunohistochemistry and Western blot; and their cardiac mRNA expressions of *TLR4*, *MyD88* and *NF- κ B* measured by RT-qPCR.

RESULTS Compared to the blank group, the model group exhibited significantly reduced body weight, LVEF and LVFS ($P<0.01$), alongside significantly elevated LVEDD, LVESD, and serum concentrations of NT-proBNP, TNF- α , IL-6, IL-1 and CRP ($P<0.01$). Additionally, the model group displayed greater myocardial inflammatory cell aggregation, increased collagen deposition ($P<0.01$); and upregulated myocardial protein and mRNA expressions of TLR4, MyD88 and NF- κ B ($P<0.01$). Compared to the model group, the groups intervened with captopril or medium/high dose Qifu Yixin Granules demonstrated significantly increased body weight, LVEF and LVFS ($P<0.05$, $P<0.01$); significantly reduced LVEDD, LVESD, and serum levels of the aforementioned indicators ($P<0.05$, $P<0.01$); mitigated inflammation and collagen deposition ($P<0.05$, $P<0.01$); and downregulated myocardial protein and mRNA expressions of TLR4, MyD88 and NF- κ B ($P<0.05$, $P<0.01$).

CONCLUSION Qifu Yixin Granules attenuate cardiac inflammation and improve cardiac function in doxorubicin-induced CHF rats; this therapeutic effect is mediated by inhibiting the activation of the TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway.

KEY WORDS: Qifu Yixin Granules; heart failure; inflammation; TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway

慢性心力衰竭 (chronic heart failure, CHF) 是由心脏结构或功能异常引起的心室射血和/或充盈功能下降为主要特征的综合征^[1]。流行病学资料显示,全球成人心衰患病率为 1%~3%^[2],此外 CHF5 年存活率与恶性肿瘤接近^[3],研究表明我国心血管病患率和病死率处于持续上升阶段,严重影响患者的身心健康^[4]。炎症通过多种机制途径参与心衰的发病和进展^[5],模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRRs) 如 Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLRs),在先天免疫系统中起着至关重要的作用^[6]。TLR4 是一个跨膜蛋白,属于 TLR 家族^[7],是心脏炎症的重要介质,可特异性识别病原体相关分子模式,触发先天免疫炎症的产生^[8]。激活核因子 κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 抑制剂的磷酸化、泛素化和降解,进而触发 NF- κ B 的核转运,并特异性结合下游基因启动子或增强子中 κ B 的转录调控序列,导致炎症相关基因的转录和表达^[9],从而诱导炎症因子的释放和炎症反应^[10]。

中医理论认为心力衰竭的证候为本虚标实、虚实夹杂^[11],本虚以阳虚为主;标实以血瘀为主。芪附益心颗粒是以古典名方真武汤和血府逐瘀汤作为基础方加减而得,具有益气温阳、活血化瘀之功效。课题组前期临床观察发现,芪附益心方可通过

抑制炎症状态治疗 CHF。本实验采用腹腔注射阿霉素建立大鼠心衰模型,以 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路为切入点,探讨芪附益心颗粒对 CHF 大鼠的心肌保护作用及机制,以期芪附益心颗粒临床应用提供依据。

1 材料

1.1 实验动物 SPF 级雄性 Wistar 大鼠 82 只,6~8 周龄,体质量 (200 $\pm$ 20) g,购自斯贝福 (北京) 生物技术有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (京) 2019-0010],饲养于甘肃中医药大学 SPF 级动物实验中心 [实验动物使用许可证号 SYXK (甘) 2021-0004],自由饮食饮水。维持适宜的温湿度,关灯与照明 12 h 交替进行以维持大鼠的生物钟和行为节律。本实验获得甘肃中医药大学伦理委员会批准 (伦理审查号 2023-599)。

1.2 药物与试剂 芪附益心颗粒 (委托甘肃兰药药业有限公司生产,批号 20211001);卡托普利片 (山西津华晖星制药有限公司,批号 H19993357)。盐酸阿霉素 (北京索莱宝科技有限公司,批号 25316-40-9);TLR4、MyD88、NF- κ B 抗体 (美国 ImmunoWay 公司,批号 YT0744/B440R、YT2928/B2803、Y3108/B0801);大鼠 N 端前脑钠素 (NT-proBNP)、白细胞介素 (IL) -1、IL-6、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) ELISA 试剂盒 (江苏酶免实业有

限公司, 批号 MM-0329R2、MM-0046R2、MM-0180R2、MM-0180R2)。

1.3 仪器 摇床 (美国 SCIOGEX 公司, 型号 SK-O180-E); 全自动化化学发光成像系统 (北京六一生物技术有限公司, 型号 WD-9423C); 全套电泳转印系统 (美国 Bio-Rad 公司, 型号 AD0412LS-C50); 包埋机 (武汉俊杰电子有限公司, 型号 JB-P5); 组织摊片机 (浙江省金华市科迪仪器设备有限公司, 型号 KD-P); 切片机 (上海徠卡仪器有限公司, 型号 RM2016); 烤箱 (天津市莱玻特瑞仪器设备有限公司, 型号 GFL-230); 成像系统 (日本尼康公司, 型号 NIKONDS-U3)。

2 方法

2.1 动物分组、造模及给药 大鼠随机分为空白组 (12 只) 和造模组 (70 只), 造模组大鼠腹腔注射阿霉素 2.5 mg/kg, 每周 1 次, 共 6 周, 观察大鼠体质量、毛色、活动状况及精神状态等评估造模效果, 并随机抽取 10 只模型组大鼠检测 LVEF、LVFS, 评判 CHF 造模是否成功^[12]。在造模期间, 有 24 只大鼠死亡。将存活且造模成功的 46 只大鼠随机分为模型组 10 只、卡托普利组 9 只和芪附益心颗粒低、中、高剂量组各 9 只。空白组和模型组灌胃给予生理盐水; 卡托普利组灌胃给予 22.5 mg/kg 卡托普利混悬液 (将药物粉末加入生理盐水, 制成 1 mg/mL 混悬液); 芪附益心颗粒低、中、高剂量组分别灌胃给予以 2.84、5.67、11.34 g/kg 芪附益心颗粒混悬液 (颗粒剂加入生理盐水, 制成 0.28、0.57、1.13 g/mL 混悬液), 每天 1 次, 连续灌胃 6 周。实验期间观察并记录实验大鼠的精神状态、进食、体质量、自主活动、皮毛状态及大小便性状等情况。

2.2 心脏彩超检测大鼠心功能 给药结束后, 大鼠腹腔注射 3% 戊巴比妥钠 (1 mL/kg) 进行麻醉, 仰卧固定于动物台上, 剃除胸部毛发, 使用超声探头沿胸骨旁左室长轴切面检测, 并持续记录 3 次心脏收缩和舒张时期参数, 包括左心室射血分数 (LVEF)、左心室缩短分数 (LVFS)、左心室舒张末期内径 (LVEDD)、左心室收缩末期内径 (LVESD)。

2.3 ELISA 法检测血清 NT-proBNP、TNF-α、IL-6、IL-1 及 CRP 水平 给药结束后, 大鼠禁食 24 h, 腹腔注射 3% 戊巴比妥钠 (1 mL/kg) 进行麻醉, 心脏采血 3 mL, 静置, 以 3 000 r/min 离心 5 min, 取上层血清。按照相应 ELISA 试剂盒说明

书操作, 检测 450 nm 波长处各孔光密度 (OD) 值, 计算血清 NT-proBNP、TNF-α、IL-6、IL-1 及 CRP 水平。

2.4 心肌组织 HE 染色 取各组大鼠左心室心尖组织, 使用甲醛固定液固定, 脱水后石蜡包埋, 制备切片 (厚度 4 μm), 切片脱蜡水化, 行常规 HE 染色, 于显微镜下观察。

2.5 心肌组织 Masson 染色 取心肌组织石蜡切片, 脱蜡水化后, 按照试剂盒说明书行 Masson 染色, 于显微镜下观察心肌纤维化程度, 蓝色为胶原着色, 通过 Image J 软件分析胶原容积分数 (CVF), 公式为 $CVF = (\text{蓝色着色面积} / \text{总面积}) \times 100\%$ 。

2.6 免疫组化法检测心肌组织 TLR4、MyD88、NF-κB 蛋白表达 取心肌组织石蜡切片, 放入抗原修复液中煮沸 20 min, 冷却后滴加内源性过氧化物酶, 室温反应 10 min, PBST 洗涤后加一抗 4 ℃ 孵育过夜, 次日 PBST 洗涤后加反应增强液孵育 20 min, PBST 洗涤后加二抗室温孵育 40 min。最后经 PBST 洗涤、DAB 显色、PBST 终止, 苏木精染核 2 min, 水洗并温水返蓝。反向脱蜡水化后, 中性树胶封片, 最后在光学显微镜下观察 TLR4、MyD88、NF-κB 蛋白表达, 通过 Image J 软件分析。

2.7 Western blot 法检测心肌组织 TLR4、MyD88、NF-κB 蛋白表达 取心肌组织 20 mg, 加入 200 μL 裂解液 (RIPA : PMSF = 100 : 1), 置于冰上研磨, 裂解心肌组织, 提取蛋白, 使用 BCA 蛋白定量试剂盒检测蛋白浓度, 确定上样量, 蛋白经过 10% SDS-PAGE 凝胶电泳后, 转移到聚偏氟乙烯 (PVDF) 膜。将 PVDF 膜与含有 5% 脱脂奶粉的 1× TBST 室温孵育 2 h, 与稀释后的一抗在 4 ℃ 下孵育过夜, 次日与 HRP 偶联的二抗 (1 : 10 000) 孵育 2 h, 滴加特超敏增强化学发光底物, 在 X 射线胶片上进行曝光, 通过 Image J 软件测定蛋白印迹灰度值。

2.8 RT-qPCR 法检测心肌组织 TLR4、MyD88、NF-κB mRNA 表达 取心肌组织, 采用 TRIzol 法提取总 RNA, 反转录成 cDNA, 进行 PCR 扩增反应, 扩增程序为 95 ℃ 预变性 15 min, 1 个循环; 95 ℃ 变性 10 s, 60 ℃ 退火 20 s, 40 个循环。以 GAPDH 为内参, 采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算目的基因 mRNA 相对表达。引物由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成, 引物序列见表 1。

2.9 统计学分析 通过 SPSS 26.0 软件进行处

表 1 引物序列

Tab. 1 Primer sequences	
基因	引物序列
GAPDH	正向 5'-GGCACAGTCAAGGCTGAGAATG-3'
	反向 5'-ATGGTGGTGAAGACGCCAGTA-3'
TLR4	正向 5'-CCGCTCTGGCATCATCTTCA-3'
	反向 5'-CCCACTCGAGGTAGGTGTTTCTG-3'
NF-κB	正向 5'-TGACGGGAGGGGAAGAAATC-3'
	反向 5'-TGAACAAACACGGAAGCTGG-3'
MyD88	正向 5'-TATACCAACCCTTGCACCAAGTC-3'
	反向 5'-TCAGGCTCCAAGTCAGCTCATC-3'

理，数据以（ $\bar{x}\pm s$ ）表示，组间比较采用单因素方差分析。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 芪附益心颗粒对 CHF 大鼠体质量的影响 与空白组比较，模型组大鼠体质量降低（ $P<0.01$ ）；与模型组比较，卡托普利组和芪附益心颗粒中、高剂量组大鼠体质量增加（ $P<0.05$ ， $P<0.01$ ），见表 2。

3.2 芪附益心颗粒对 CHF 大鼠心功能的影响 与

表 3 各组大鼠 LVEF、LVFS、LVEDD、LVESD 值比较（ $\bar{x}\pm s$ ， $n=8$ ）

Tab. 3 Comparison of LVEF, LVFS, LVEDD and LVSD values of rats in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)				
组别	LVEF/%	LVFS/%	LVEDD/mm	LVESD/mm
空白组	78.12±5.74	44.87±2.71	4.55±0.25	2.87±0.22
模型组	37.75±2.71**	32.00±2.82**	6.26±0.31**	4.72±0.17**
卡托普利组	46.62±6.06 [#]	41.75±1.63 ^{##}	4.71±0.14 ^{##}	3.62±0.15 ^{##}
芪附益心颗粒低剂量组	38.87±2.74	32.75±2.33	6.27±0.23	4.53±0.14
芪附益心颗粒中剂量组	42.75±2.37 [#]	34.62±1.79	5.60±0.20 ^{##}	4.28±0.16 ^{##}
芪附益心颗粒高剂量组	43.75±3.45 [#]	35.87±3.25 ^{##}	5.26±0.09 ^{##}	3.75±0.30 ^{##}

注：与空白组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，[#] $P<0.05$ ，^{##} $P<0.01$ 。

3.3 芪附益心颗粒对 CHF 大鼠血清 NT-proBNP、TNF-α、IL-1、IL-6、CRP 水平的影响 与空白组比较，模型组大鼠血清 NT-proBNP、TNF-α、IL-1、IL-6、CRP 水平升高（ $P<0.01$ ）；与模型组比较，

表 4 各组大鼠血清 NT-proBNP、TNF-α、IL-1、IL-6、CRP 水平比较（pg/mL， $\bar{x}\pm s$ ， $n=8$ ）

Tab. 4 Comparison of serum NT-proBNP, TNF-α, IL-1, IL-6 and CRP levels of rats in each group (pg/mL, $\bar{x}\pm s$, $n=8$)					
组别	NT-proBNP	TNF-α	IL-1	IL-6	CRP
空白组	47.92±7.02	47.31±3.85	73.62±5.31	37.30±3.47	535.65±36.64
模型组	137.39±18.35**	218.74±8.29**	195.75±15.63**	103.04±5.45**	1 241.11±36.64**
卡托普利组	64.38±9.53 ^{##}	81.51±7.40 ^{##}	87.82±14.79 ^{##}	59.50±3.94 ^{##}	719.50±33.05 ^{##}
芪附益心颗粒低剂量组	119.41±6.79	162.07±4.76 ^{##}	202.91±35.31	90.05±11.05	1 066.62±89.42 ^{##}
芪附益心颗粒中剂量组	102.24±4.27 [#]	156.43±26.40 ^{##}	134.04±27.01 ^{##}	81.92±6.35 ^{##}	969.81±36.79 ^{##}
芪附益心颗粒高剂量组	81.07±7.65 ^{##}	115.23±24.30 ^{##}	119.08±35.45 ^{##}	61.69±6.58 ^{##}	767.31±65.11 ^{##}

注：与空白组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，[#] $P<0.05$ ，^{##} $P<0.01$ 。

3.4 芪附益心颗粒对 CHF 大鼠心肌组织病理变化的影响 模型组见少量心肌细胞肥大、细胞核深染，部分心肌细胞变性、坏死，肌纤维断裂，间质炎细胞浸润；芪附益心颗粒低剂量组见少量心肌细胞肥大、细胞核深染，部分心肌细胞核固缩，肌纤

空白组比较，模型组大鼠心功能指标 LVEF、LVFS 值降低（ $P<0.01$ ），LVEDD、LVESD 值升高（ $P<0.01$ ）；与模型组比较，卡托普利组和芪附益心颗粒高剂量组大鼠 LVEF、LVFS 值升高（ $P<0.05$ ， $P<0.01$ ），LVEDD、LVESD 值降低（ $P<0.01$ ），芪附益心颗粒中剂量组大鼠 LVEF 值升高（ $P<0.05$ ），LVEDD、LVESD 值降低（ $P<0.01$ ），见表 3。结果提示芪附益心颗粒对 CHF 大鼠心功能具有改善作用。

表 2 各组大鼠体质量比较（g， $\bar{x}\pm s$ ， $n=8$ ）

Tab. 2 Comparison of body weight of rats in each group (g, $\bar{x}\pm s$, $n=8$)

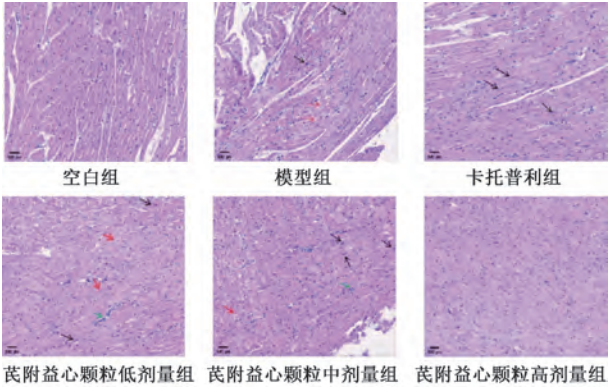
组别	体质量
空白组	432.64±15.39
模型组	342.43±28.18**
卡托普利组	375.85±21.05 ^{##}
芪附益心颗粒低剂量组	360.12±24.49
芪附益心颗粒中剂量组	368.07±21.54 [#]
芪附益心颗粒高剂量组	381.28±31.00 ^{##}

注：与空白组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，[#] $P<0.05$ ，^{##} $P<0.01$ 。

卡托普利组和芪附益心颗粒中、高剂量组大鼠血清 NT-proBNP、TNF-α、IL-1、IL-6、CRP 水平降低（ $P<0.05$ ， $P<0.01$ ），芪附益心颗粒低剂量组大鼠血清 TNF-α、CRP 水平降低（ $P<0.01$ ），见表 4。

维排列松散，间质炎细胞浸润；芪附益心颗粒中剂量组少量心肌细胞肥大、细胞核深染，部分心肌纤维排列松散，间质少量炎细胞浸润；芪附益心颗粒高剂量组心肌细胞形态基本正常，间质炎细胞浸润不明显；卡托普利组部分心肌细胞肥大、细胞核深

染，间质炎症细胞浸润不明显，见图 1。



注：黑色箭头示心肌细胞肥大、细胞核深染；红色箭头示心肌细胞排列松散，肌纤维断裂；绿色箭头示炎细胞。

图 1 各组大鼠心肌组织 HE 染色 (×200)
Fig.1 HE staining of rat myocardial tissue of each group (×200)

3.5 芪附益心颗粒对 CHF 大鼠心肌组织纤维化的影响 与空白组比较，模型组大鼠心肌组织胶原纤维沉积增加，CVF 值升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，卡托普利组和芪附益心颗粒高剂量组大鼠心肌组织胶原纤维沉积减少，CVF 值降低 ($P<0.01$)，见表 5、图 2。

3.6 芪附益心颗粒对 CHF 大鼠心肌组织 TLR4、MyD88、NF-κB 蛋白表达的影响 免疫组化染色和 Western blot 结果均显示，与空白组比较，模型组大鼠心肌组织 TLR4、MyD88、NF-κB 蛋白表达均

表 6 各组大鼠心肌组织 TLR4、MyD88、NF-κB 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)
Tab.6 Comparison of protein expressions of TLR4, MyD88 and NF-κB in myocardial tissue of rats in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	免疫组化染色			Western blot		
	TLR4/%	MyD88/%	NF-κB/%	TLR4/β-actin	MyD88/β-actin	NF-κB/β-actin
空白组	15.77±0.08	30.38±0.07	23.22±5.54	0.45±0.02	0.59±0.16	0.48±0.02
模型组	60.29±0.09**	60.87±1.45**	53.68±0.60**	1.56±0.04**	1.31±0.03**	1.55±0.05**
卡托普利组	30.71±0.13##	32.57±0.06##	29.04±0.13##	0.72±0.01##	0.64±0.01##	0.73±0.04##
芪附益心颗粒低剂量组	45.08±0.14##	53.58±0.06##	40.91±0.11##	1.39±0.03##	1.09±0.01##	1.34±0.04##
芪附益心颗粒中剂量组	39.91±0.09##	43.77±0.05##	35.55±0.12##	1.16±0.04##	1.05±0.04##	0.97±0.02##
芪附益心颗粒高剂量组	24.07±1.07##	33.70±0.11##	31.94±0.25##	1.05±0.02##	0.80±0.04##	0.74±0.02##

注：与空白组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，## $P<0.01$ 。

3.7 芪附益心颗粒对 CHF 大鼠心肌组织 TLR4、MyD88、NF-κB mRNA 表达的影响 与空白组比较，模型组大鼠心肌组织 TLR4、MyD88、NF-κB mRNA 表达升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，卡托普利组和芪附益心颗粒中、高剂量组大鼠心肌组织 TLR4、MyD88、NF-κB mRNA 表达均降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，见表 7。

表 5 各组大鼠 CVF 值比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)
Tab.5 Comparison of CVF values of rats in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	CVF/%
空白组	12.54±1.63
模型组	47.15±5.14**
卡托普利组	19.66±4.21##
芪附益心颗粒低剂量组	40.66±2.82
芪附益心颗粒中剂量组	35.22±5.29
芪附益心颗粒高剂量组	26.21±3.42##

注：与空白组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，## $P<0.01$ 。

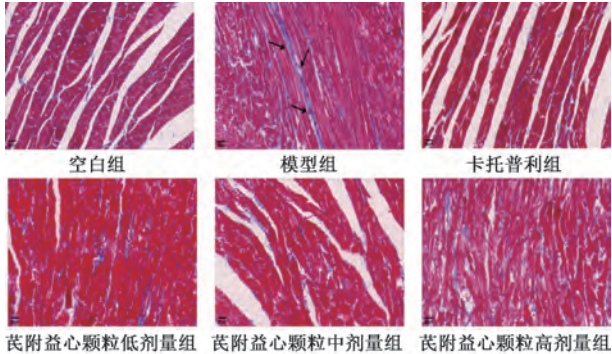


图 2 各组大鼠心肌组织 Masson 染色 (×400)
Fig.2 Masson staining of rat myocardial tissue for each group (×400)

升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，卡托普利组和芪附益心颗粒各剂量组大鼠心肌组织 TLR4、MyD88、NF-κB 蛋白表达均降低 ($P<0.01$)，见表 6、图 3~4。

4 讨论

中医学认为 CHF 属于“心水病”范畴，其病理性质为本虚标实，虚实夹杂^[13]。芪附益心颗粒方中黄芪补气升阳、利水消肿^[14]，黑顺片温肾助阳、化气行水，共为君药^[15]；党参健脾益肺^[16]，鹿角温补肝肾、益精养血，当归补血活血，赤芍清热凉血、散瘀止痛，葶苈子泻肺平喘、行水消肿，

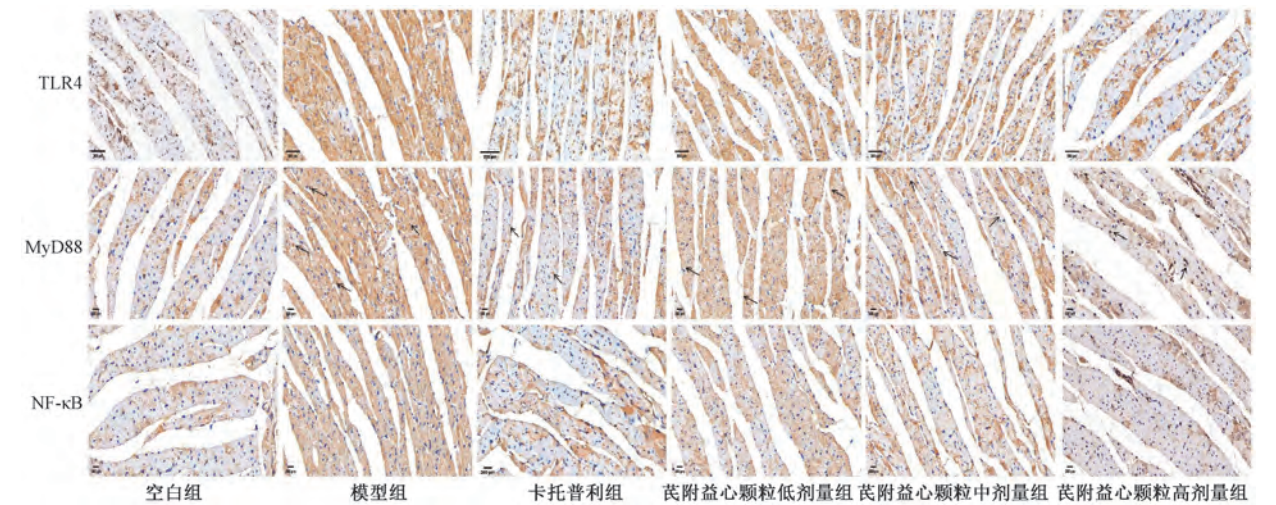
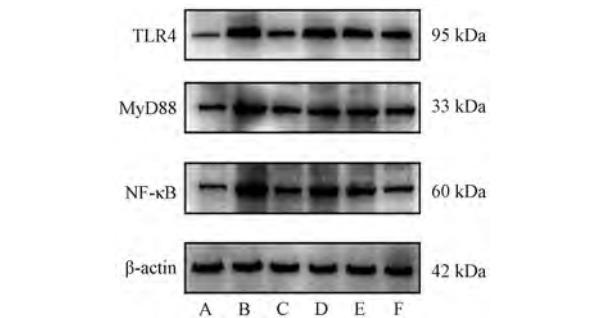


图 3 各组大鼠心肌组织 TLR4、MyD88、NF-κB 蛋白免疫组化染色

Fig. 3 Immunohistochemical staining of TLR4, MyD88 and NF-κB protein in myocardial tissue of rats in each group



注：A 为空白组，B 为模型组，C 为卡托普利组，D~F 分别为芪附益心颗粒低、中、高剂量组。

图 4 各组大鼠心肌组织 TLR4、MyD88、NF-κB 蛋白印迹图

Fig. 4 Protein bands of TLR4, MyD88 and NF-κB in myocardial tissue of rats in each group

表 7 各组大鼠心肌组织 TLR4、MyD88、NF-κB mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Tab. 7 Comparison of mRNA expressions of TLR4, MyD88 and NF-κB in myocardial tissue of rats in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	TLR4	MyD88	NF-κB
空白组	0.56±0.08	0.95±0.05	1.02±0.16
模型组	0.98±0.04**	2.06±0.06**	1.57±0.09**
卡托普利组	0.72±0.05##	1.13±0.11##	0.62±0.49##
芪附益心颗粒低剂量组	0.85±0.07	1.81±0.07	1.32±0.58
芪附益心颗粒中剂量组	0.78±0.06#	1.54±0.09##	0.95±0.06##
芪附益心颗粒高剂量组	0.68±0.02##	1.24±0.10##	0.62±0.12##

注：与空白组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

白术健脾益气、燥湿利水^[17]，共为臣药，诸药合用共奏益气温阳、化瘀利水之功效。

现代医学研究发现，炎症反应贯穿 CHF 发生发展的全过程，而 TLR4/MyD88/NF-κB 信号通路则是调控炎症级联反应的核心枢纽。TLRs 作为先天免疫系统识别病原体相关分子模式（PAMPs）和损伤相关分子模式（DAMPs）的关键受体，在维持机体免疫稳态中发挥重要作用。其中，TLR4 在心脏组织中表达尤为显著，其异常激活与 CHF、心肌梗死等心血管疾病的发生密切相关^[18]。当心肌细胞遭受缺血、缺氧等损伤时，内源性 DAMPs 释放并与 TLR4 特异性结合，触发下游信号转导^[19]。活化的 NF-κB 从细胞质转位至细胞核，与 DNA 特定序列结合，启动 TNF-α、IL-1、IL-6 等促炎细胞因子以及细胞粘附分子的基因转录，引发持续性炎症反应，最终导致炎性细胞浸润、心室重构和心功能恶化^[20-21]。

本研究构建的 CHF 大鼠模型呈现出典型的病理特征，心肌细胞出现肥大、变性及坏死，肌纤维断裂，间质大量炎细胞浸润。同时，血清中 NT-proBNP、TNF-α、IL-1、IL-6、CRP 水平升高，心肌组织中 TLR4、MyD88、NF-κB 蛋白表达上调，充分证实了炎症反应在 CHF 病理进程中的驱动作用。NT-proBNP 作为评估心功能的重要生物标志物，其水平升高通常提示心肌细胞拉伸和心室壁张力增加，本研究中模型组 NT-proBNP 升高与心肌炎症导致的心肌细胞损伤、心功能下降密切相关。CRP 作为肝脏合成的急性时相反应蛋白，其合成受 TNF-α、IL-6 等炎症因子的调控，模型组 CRP 水平升高正是机体炎症状态的直接体现。经芪附益心颗粒干预后，大鼠心功能得到显著改善，心肌组

织炎症细胞浸润减少，胶原纤维沉积减轻，血清炎症因子 TNF- α 、IL-1、IL-6 水平降低，同时 TLR4、MyD88、NF- κ B 蛋白表达下调，这表明芪附益心颗粒可通过抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路，阻断炎症级联反应的启动和放大。

综上所述，芪附益心颗粒可能通过下调 TLR4 和 MyD88 的表达，抑制 NF- κ B 的磷酸化和核转位，从而减少炎症相关基因的转录激活，降低促炎细胞因子的生成和释放，减轻心脏炎症损伤，促进心功能的恢复。

参考文献：

[1] Heidenreich P A, Bozkurt B, Aguilar D, *et al.* 2022 AHA/ACC/HFSA Guideline for the Management of Heart Failure: executive summary: a report of the American college of cardiology/american heart association joint committee on clinical practice guidelines[J]. *Circulation*, 2022, 145 (18): e876-e894.

[2] 王 华, 刘宇佳, 杨杰孚. 心力衰竭流行病学[J]. 临床心血管病杂志, 2023, 39(4): 243-247.

[3] Maruyama K, Imanaka-Yoshida K. The pathogenesis of cardiac fibrosis: a review of recent progress[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(5): 2617.

[4] 中国心血管健康与疾病报告编写组. 中国心血管健康与疾病报告 2021 概要[J]. 中国循环杂志, 2022, 37 (6): 553-578.

[5] Kim H J, Kim H, Lee J H, *et al.* Toll-like receptor 4 (TLR4): new insight immune and aging[J]. *Immun Ageing*, 2023, 20(1): 67.

[6] Liu L, Wang Y, Cao Z Y, *et al.* Up-regulated TLR4 in cardiomyocytes exacerbates heart failure after long-term myocardial infarction[J]. *J Cell Mol Med*, 2015, 19 (12): 2728-2740.

[7] Zhang Y, Liang X, Bao X, *et al.* Toll-like receptor 4 (TLR4) inhibitors: current research and prospective[J]. *Eur J Med Chem*, 2022, 235: 114291.

[8] 文仙仙, 张 娜, 王兴兴, 等. Toll 样受体 4 信号通路对慢性心力衰竭患者心血管事件的预测[J]. 心肺血管病杂志,

2023, 42(6): 547-552.

[9] 李 白, 吴 丹, 李广霞. 不同心功能分级慢性心力衰竭患者超声心动图参数及 TLR-4 信号通路蛋白水平观察[J]. 临床和实验医学杂志, 2023, 22(13): 1421-1424.

[10] Sharma S, Garg I, Aahraf M Z. TLR signalling and association of TLR polymorphism with cardiovascular diseases[J]. *Vascul Pharmacol*, 2016, 87: 30-37.

[11] 廉 坤, 邓 颖, 唐思琴, 等. 中药调控 NF- κ B 信号通路干预慢性心力衰竭的进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(21): 243-251.

[12] 张淑莹, 武晓峰, 郭丽敏, 等. 两种阿霉素心力衰竭模型及心功能进展的评估[J]. 山东大学学报 (医学版), 2020, 58(12): 1-7.

[13] 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.

[14] 邵长鑫, 林欢欢, 靳晓杰, 等. 黄芪的炮制历史沿革及现代研究进展[J]. 中草药, 2023, 54(15): 5057-5074.

[15] 王 萍, 吴 璇, 吴 璐, 等. 附子多糖的提取、纯化及药理活性研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2023, 41(10): 182-187.

[16] 张重阳, 于 森, 陈荣昌, 等. 党参药理作用的研究进展[J]. 中药新药与临床药理, 2024, 35(5): 765-770.

[17] 刘棣文, 何莉莉, 崔 娜, 等. 白术化学成分、药理作用研究进展及质量标志物预测[J]. 中医药信息, 2024, 41(1): 65-78.

[18] Halade G V, Lee D H. Inflammation and resolution signaling in cardiac repair and heart failure[J]. *EBioMedicine*, 2022, 79: 103992.

[19] 张方圆, 许伟明, 王 琛, 等. 基于 TLR4 信号通路探讨中药防治心血管疾病的机制研究进展[J]. 世界中医药, 2021, 16(21): 3137-3142.

[20] Dong X, Han X, Zhang X, *et al.* A simplified herbal formula improves cardiac function and reduces inflammation in mice through the TLR-mediated NF- κ B signaling pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 865614.

[21] Li C, Wang J, Feng J, *et al.* Circ-TLR4 promotes cardiac hypertrophy through recruiting FUS to stabilize TLR4 mRNA[J]. *J Interv Card Electrophysiol*, 2022, 65 (1): 153-163.