

基于 NLRP3 炎症小体探讨西洋参提取物对多柔比星心脏毒性的改善作用

鲍会云, 张浩, 丁小云, 黄思, 徐立雯, 王虎, 李意婷, 汤喜兰*
(江西科技师范大学药学院, 江西南昌 330013)

摘要: 目的 观察西洋参提取物改善多柔比星 (DOX) 诱导的大鼠心脏毒性的作用机制。方法 30 只 SD 大鼠随机分为正常组、西洋参提取物高剂量组 (0.9 g/kg)、模型组和 DOX+西洋参提取物低、高剂量组 (0.45、0.9 g/kg), 通过腹腔注射 DOX 建立心脏毒性模型, 造模前 3 d 开始灌胃给药, 直至实验结束。末次给药后, 大鼠腹主动脉取血并收集心脏, HE、Masson 染色观察心肌组织病理改变; 试剂盒检测血清 LDH、AST、CK-MB、IL-1 β 及 IL-18 水平; RT-qPCR 和 Western blot 法检测心肌组织 NLRP3 炎症小体相关基因和蛋白表达。体外实验采用 DOX 诱导建立大鼠乳鼠心肌细胞损伤模型, 将细胞分为正常组、西洋参提取物组 (100 μ g/mL)、DOX 组和 DOX+西洋参提取物组 (100 μ g/mL)。采用 MTT 法检测心肌细胞活力; 试剂盒检测心肌细胞上清 LDH 水平; RT-qPCR 和 Western blot 法检测心肌细胞 NLRP3 炎症小体相关基因和蛋白表达。**结果** 动物实验结果显示, 与模型组比较, DOX+西洋参提取物各剂量组大鼠体质量和心脏指数升高 ($P<0.05$); 心肌组织炎症浸润和胶原纤维沉积减少; 血清 LDH、AST、CK-MB、IL-1 β 和 IL-18 水平降低 ($P<0.05$); 心肌组织 NLRP3、ASC、pro-Caspase-1、Caspase-1、GSDMD-FL、GSDMD-N、pro-IL-1 β 、IL-1 β 蛋白和 NLRP3、ASC、CASP1、GSDMD、IL-1 β 、IL-18 mRNA 表达降低 ($P<0.05$)。细胞实验结果显示, 12.5~200.0 μ g/mL 西洋参提取物对大鼠乳鼠心肌细胞活力没有影响 ($P>0.05$), 与 DOX 组比较, 西洋参提取物组细胞存活率升高 ($P<0.05$), 细胞上清液中 LDH 水平降低 ($P<0.05$), NLRP3、ASC、pro-Caspase-1、Caspase-1、GSDMD-N、pro-IL-1 β 蛋白和 NLRP3、ASC、CASP1、GSDMD、IL-1 β mRNA 表达降低 ($P<0.05$)。**结论** 西洋参提取物能缓解 DOX 诱导的大鼠心脏毒性, 其机制可能与抑制 NLRP3 炎症小体有关。

关键词: 西洋参提取物; 心脏毒性; 多柔比星; NLRP3 炎症小体

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)03-0798-09

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2026.03.012

Effect of *Panax quinquefolium* extract on doxorubicin cardiotoxicity based on NLRP3 inflammasome

BAO Hui-yun, ZHANG Hao, DING Xiao-yun, HUANG Si, XU Li-wen, WANG Hu,
LI Yi-ting, TANG Xi-lan*

(School of Pharmacy, Jiangxi Science & Technology Normal University, Nanchang 330013, China)

ABSTRACT: AIM To observe the mechanism of *Panax quinquefolium* extract in improving doxorubicin (DOX)-induced cardiotoxicity in rats. **METHODS** Thirty SD rats were randomly divided into normal group, high-dose *P. quinquefolium* extract group (0.9 g/kg), model group, and DOX + low- and high-dose *P. quinquefolium* extract groups (0.45, 0.9 g/kg). The cardiotoxicity model was established by intraperitoneal injection of DOX. Oral administration of the drug started 3 days before modeling and continued until the end of the experiment. After the last administration, blood was collected from the abdominal aorta and hearts were harvested. HE and Masson staining were used to observe pathological changes in myocardial tissue; assay kits were used to

收稿日期: 2025-07-17

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82360787, 81960732); 江西省自然科学基金资助项目 (20242BAB25573); 研究生省级创新专项资金立项项目 (YC2024-S691)

作者简介: 鲍会云 (1999—), 女, 硕士在读, 研究方向为中药心血管药理。E-mail: 740191749@qq.com

* **通信作者:** 汤喜兰 (1983—), 女, 博士, 副教授, 研究方向为中药心血管药理。E-mail: tangxilan1983@163.com

detect serum levels of LDH, AST, CK-MB, IL-1 β , and IL-18; RT-qPCR and Western blot were used to detect the expressions of NLRP3 inflammasome-related genes and proteins in myocardial tissue. *In vitro* experiments used DOX-induced injury model of neonatal rat cardiomyocytes. Cells were divided into normal group, *P. quinquefolium* extract group (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$), DOX group, and DOX + *P. quinquefolium* extract group (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$). MTT assay was used to detect cardiomyocyte viability; assay kits were used to detect LDH levels in cardiomyocyte supernatant; RT-qPCR and Western blot were used to detect NLRP3 inflammasome-related gene and protein expressions in cardiomyocytes. **RESULTS** The animal experimental result showed that, compared with the model group, body weight and heart index were increased in the DOX + *P. quinquefolium* extract groups at all doses ($P < 0.05$); inflammatory infiltration and collagen fiber deposition in myocardial tissue were reduced; serum levels of LDH, AST, CK-MB, IL-1 β and IL-18 were decreased ($P < 0.05$); protein expressions of NLRP3, ASC, pro-Caspase-1, Caspase-1, GSDMD-FL, GSDMD-N, pro-IL-1 β and IL-1 β , and mRNA expressions of *NLRP3*, *ASC*, *CASP1*, *GSDMD*, *IL-1 β* and *IL-18* in myocardial tissue were decreased ($P < 0.05$). The cellular experimental result showed that *P. quinquefolium* extract at concentrations of 12.5-200.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ had no effect on the viability of neonatal rat cardiomyocytes ($P > 0.05$). Compared with the DOX group, the *P. quinquefolium* extract group exhibited increased cell viability ($P < 0.05$), decreased LDH levels in the cell supernatant ($P < 0.05$), and decreased protein expressions of NLRP3, ASC, pro-Caspase-1, Caspase-1, GSDMD-N, pro-IL-1 β , and mRNA expressions of *NLRP3*, *ASC*, *CASP1*, *GSDMD* and *IL-1 β* ($P < 0.05$). **CONCLUSION** *P. quinquefolium* extract can alleviate DOX-induced cardiotoxicity in rats, and its mechanism may be related to the inhibition of NLRP3 inflammasome expression.

KEY WORDS: *Panax quinquefolium* extract; cardiotoxicity; doxorubicin; NLRP3 inflammasome

蒺藜类药物多柔比星 (doxorubicin, DOX) 是 FDA 批准的一线抗肿瘤药物, 常用于治疗乳腺癌、淋巴瘤、软组织肉瘤等多种癌症, 但 DOX 可致脱发、骨髓抑制和心脏毒性等不良反应, 以心脏毒性最为严重^[1]。目前, DOX 心脏毒性机制相关研究主要为氧化应激和拓扑异构酶 2 β 抑制。越来越多的研究认为, DOX 可通过激活炎性通路导致心脏毒性, 其中核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (NLRP3) 炎症小体激活在 DOX 心脏毒性中具有重要作用, 而抑制 NLRP3 炎症小体激活可减轻 DOX 心脏毒性^[2-3]。

蒺藜类药物心脏毒性可归属中医学“心悸”“胸痹”或者“药毒”范畴。目前, 中医对化疗药物心脏毒性的病因病机缺乏统一认识^[4]。《医宗必读·积聚》云:“积之成者, 正气不足, 而后邪气踞之”, 表明恶性肿瘤发病的基础是机体正气亏虚。肿瘤化疗后以虚证为主, 其中气阴两虚证最为常见^[5], 常以益气养阴为基础加减用药治疗^[6-7]。西洋参 *Panax quinquefolius* L. 为五加科人参属的多年生草本植物, 具有补气养阴、清热生津的功效, 用于治疗气虚阴亏、内热、咳喘痰血、虚热烦倦等症^[8]。西洋参具有良好的心脏保护作用, 在防治蒺藜类心脏毒性方面具有潜在的价值^[9], 但作用

机制尚不明确。因此, 本研究通过 DOX 诱导大鼠心脏毒性模型, 观察西洋参提取物对 DOX 诱导的心脏毒性大鼠 NLRP3 炎症小体表达的影响, 以期为西洋参的临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠, 体质量 200~220 g; SPF 级 SD 大鼠乳鼠, 1~3 日龄, 雌、雄不限, 购自江西中医药大学实验动物科学技术中心 [实验动物生产许可证号 SCXK (赣) 2023-0001]。所有动物都在标准条件下喂养, 自由摄食饮水, 适应性饲养 1 周后进行实验。本研究严格遵循动物实验相关要求及规则进行, 实验方案经江西科技师范大学伦理委员会审核批准 (伦理编号 Y202442)。

1.2 药物 4 年生西洋参 (批号 CGF-BO4Y-1911) 购自加拿大西洋参农场, 经高速粉碎机粉碎后过筛, 用 12 倍量 75% 乙醇加热回流提取 3 次, 每次 1.5 h, 趁热过滤后合并滤液, 并减压浓缩为浸膏 (得率 44.66%), 将干燥的浸膏粉碎, 得到西洋参提取物粉末。采用紫外-可见分光光度计测得西洋参中总皂苷含量为 7.28%。

1.3 试剂 DOX (北京索莱宝科技有限公司, 批号 718k023); 总 RNA 提取试剂盒、PrimeScript RTTM reagent Kit with gDNA Eraser (perfect Real

Time)、SYBR Premix Ex Taq 试剂盒 (日本 TaKaRa 公司, 批号 AL42094A、AM62050A、AL61803A); CK-MB、AST 检测试剂盒 (南京建成生物工程研究所有限公司, 批号 20230923、20230209); LDH 试剂盒 (上海碧云天生物技术股份有限公司, 批号 121721220307); 大鼠 IL-1 β 、IL-18 ELISA 检测试剂盒 (江苏酶免实业有限公司, 货号 MM-0047R1、MM-0194R1); NLRP3、Caspase-1 单克隆抗体 (美国 NOVUS 公司, 货号 NBP2-12446、NBP1-45433); GSDMD 单克隆抗体 (美国 Cell Signaling Technology 公司, 货号 39754S); ASC、IL-1 β 、 β -actin 单克隆抗体 (美国 Santa Cruz 公司, 货号 sc-514414、sc-52012、sc-47778)。

1.4 仪器 Spectra Max Plus384 全波长酶标仪 (美国 Molecular Devices 公司); T100™ Thermal Cycler PCR 仪、CFX96™ Real-Time System、Mini-PROTEAN® Tetra Cell 电泳系统 (美国 Bio-rad 公司)。

2 方法

2.1 大鼠分组、造模及给药 将 30 只大鼠随机分为正常组、西洋参提取物高剂量组 (0.9 g/kg)、模型组和 DOX+西洋参提取物低、高剂量组, 每组 6 只。模型组和 DOX+西洋参提取物各剂量组大鼠腹腔注射 DOX (1.25 mg/kg, 生理盐水溶解), 每周 2 次, 连续 6 周, DOX 累积剂量达 15 mg/kg, 正常组和西洋参提取物高剂量组大鼠腹腔注射等体积生理盐水。从首次腹腔注射 DOX 前 3 d 开始给药, DOX+西洋参提取物低、高剂量组灌胃给予 0.45、0.9 g/kg 西洋参提取物 (0.5% CMC-Na 混悬); 正常组和模型组灌胃给予等体积 0.5% CMC-Na 溶液, 每天 1 次, 持续 6 周。给药期间, 观察大鼠体质量、摄食量、精神状态、毛色等一般情况。末次给药后, 大鼠禁食 12 h, 腹腔注射戊巴比妥钠 (50 mg/kg) 麻醉, 腹主动脉采血并收集心脏组织。

2.2 心肌组织病理学观察 心脏组织经预冷 PBS 冲洗后, 4% 多聚甲醛固定 24 h, 常规石蜡包埋、切片、脱蜡后, 分别进行 HE 染色和 Masson 染色, 于显微镜下观察各组大鼠心肌组织病理学改变。

2.3 大鼠乳鼠心肌细胞培养 参考文献 [10] 方法, 取 1~3 日龄的 SD 大鼠乳鼠, 75% 乙醇消毒, 断头处理后迅速取出心脏, 预冷 PBS 清洗 3 次, 将心肌剪成 1 mm³ 的组织块, 经 0.062 5% 胰蛋白酶和 0.05% II 型胶原酶消化。收集上清并用含 10% 优级胎牛血清、1% 青链霉素及 0.1 mmol/L

5-溴脱氧尿苷的 DMEM 高糖培养基终止消化, 200 目筛网过滤, 离心, 重悬细胞。将细胞接种于 10 cm 培养皿中, 置于 37 ℃、5% CO₂ 培养箱中培养 90 min, 差速贴壁去除成纤维细胞。收集未贴壁的心肌细胞, 并以 6 \times 10⁵ 个/mL 密度接种于 35 mm 培养皿中, 待细胞生长至 80%~90% 密度时用于实验。

2.4 MTT 法检测西洋参提取物对心肌细胞活力的影响 参考文献 [10] 方法, 心肌细胞以 5 \times 10⁵ 个/mL 密度接种在 96 孔板中, 每孔 100 μ L, 培养 24 h 后, 加入不同质量浓度西洋参提取物 (12.5、25.0、50.0、100.0、200.0 μ g/mL, 采用 DMSO 配制成 200 mg/mL 的储备液, 使用时稀释至所需浓度), 正常组则加入 0.1% DMSO 溶媒。药物作用 24 h 后, 加入 50 μ L MTT (1 mg/mL) 共同孵育 4 h, 弃上清, 每孔加入 150 μ L DMSO, 于酶标仪 492 nm 波长处测定各孔吸光度值, 计算细胞存活率。

2.5 心肌细胞分组及给药 将心肌细胞分为正常组、西洋参提取物组、DOX 组和 DOX+西洋参提取物组。采用 100 μ g/mL 西洋参提取物预处理心肌细胞 1 h 后, 加入 1 μ g/mL DOX^[11] (采用 DMSO 配制成 100 mg/mL 的储备液, 使用时稀释至所需浓度) 作用 24 h。收集心肌细胞和上清液进行后续实验。

2.6 生化指标检测 根据试剂盒说明书测定大鼠血清中 LDH、AST、CK-MB、IL-1 β 、IL-18 水平及心肌细胞上清中 LDH 水平。

2.7 RT-qPCR 法检测 NLRP3、ASC、CASP1、GSDMD、IL-1 β 、IL-18 mRNA 表达 采用 RNA 提取试剂盒分别提取各组大鼠心肌组织和细胞总 RNA, 并测定其浓度。取 1 μ g RNA 逆转录成 cDNA, 反应条件为 37 ℃ 15 min, 85 ℃ 5 s。以 cDNA 为模板进行 PCR 扩增, 扩增条件为 95 ℃ 预变性 30 s; 95 ℃ 变性 10 s, 60 ℃ 退火 30 s, 72 ℃ 延伸 30 s, 共 40 个循环。以 18S rRNA 为内参基因, 根据双标准曲线法计算目的基因 (NLRP3、ASC、CASP1、GSDMD、IL-1 β 、IL-18) 相对表达量。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。

2.8 Western blot 检测 NLRP3、ASC、pro-Caspase-1、Caspase-1、GSDMD、IL-1 β 蛋白表达 分别提取各组大鼠心脏组织和心肌细胞总蛋白样品, 参考文献 [10-11] 方法, 将蛋白定量和变性后, 进行

表1 引物序列
Tab. 1 Primer sequences

基因	引物序列(5'→3')	扩增长度/bp
NLRP3	正向 TCTGTTCATTGGCTGCGGAT	189
	反向 TAGCCGCAAAGAACTCCTGG	
ASC	正向 GACATGGGCATACAGGAGCT	223
	反向 CACGAAGTGCCTGGTACTGCT	
CASP1	正向 CTGAGGGCAAAGAGGAAGCA	166
	反向 CATGATCGCACAGGTCTCTGT	
GSDMD	正向 GGCAGCATCCTTGAGTGTCT	199
	反向 ATGGGGTGCTCTGTCCAAG	
IL-1β	正向 GGCAACTGTCCCTGAACTCA	170
	反向 TGTCGAGATGCTGCTGTGAG	
IL-18	正向 AGGACTGGCTGTGACCCTAT	151
	反向 TCCTGGCACAGTTTCTGAA	
18S rRNA	正向 GCCTGTTCTTGTGTTGGA	213
	反向 TGAGCCAGTTCAGTGTAGCC	

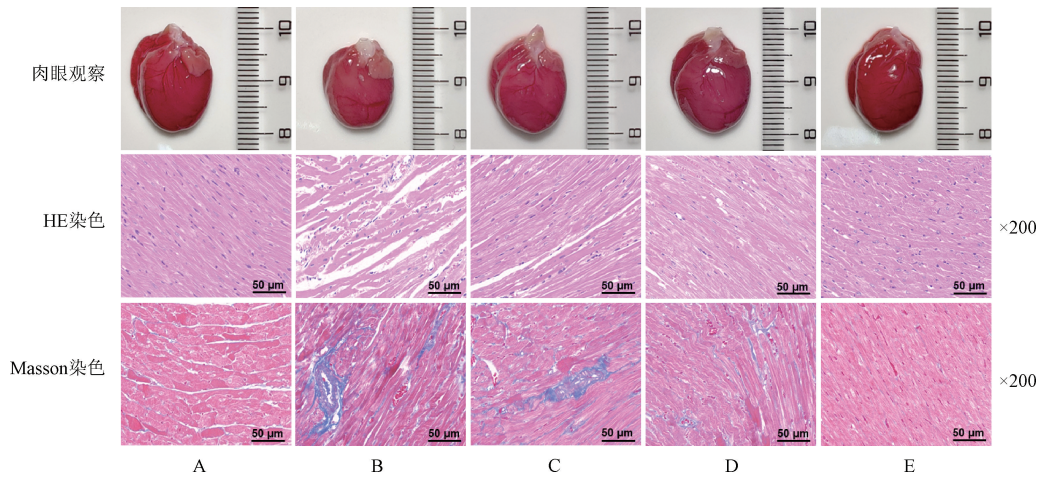
SDS-PAGE 电泳和转膜。采用 5% BSA 封闭 1 h 后分别加入一抗 NLRP3 (1 : 1 000)、GSDMD (1 : 1 000)、Caspase-1 (1 : 1 000)、ASC (1 : 500)、IL-1β (1 : 500)、β-actin (1 : 10 000), 4 ℃ 孵育过夜。次日, 加二抗室温孵育 30 min, 采用 ECL 化学发光试剂进行暗室曝光、显影和定影。运用

Image J 软件对蛋白条带进行灰度分析。以 β-actin 为内参, 计算目的蛋白相对表达量。

2.9 统计学分析 通过 GraphPad Prism 8.0 软件进行处理, 数据以均值±标准误 (SEM) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 Tukey 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 西洋参提取物对 DOX 诱导的大鼠心脏损伤的影响 与正常组比较, 模型组大鼠体质量和心脏指数降低 (P<0.05), 心脏缩小, 血清 LDH、AST 和 CK-MB 水平升高 (P<0.05); 与模型组比较, 西洋参提取物各剂量组大鼠体质量和心脏指数升高 (P<0.05), 心脏大小恢复正常, 血清 LDH、AST 和 CK-MB 水平降低 (P<0.05)。HE 染色结果显示, 与正常组比较, 模型组大鼠心肌细胞紊乱, 核空泡化和炎症细胞浸润; 与模型组比较, 西洋参提取物各剂量组心肌细胞排列更有序, 核空泡化现象减少, 炎症细胞浸润程度下降。Masson 染色结果表明, 与正常组比较, 模型组大鼠心肌纤维排列明显紊乱, 大量胶原沉积; 与模型组比较, 西洋参提取物各剂量组能明显改善心肌纤维化, 并减少胶原纤维的异常沉积。结果见图 1、表 2。



注: A 为正常组, B 为模型组, C~D 分别为 DOX+西洋参提取物低、高剂量组, E 为西洋参提取物高剂量组。

图1 各组大鼠心肌组织病理形态变化

Fig. 1 Pathological changes of myocardial tissue in each group of rats

表2 各组大鼠体质量、心脏指数及血清 LDH、AST、CK-MB 水平比较 ($\bar{x}\pm\text{SEM}$, n=6)

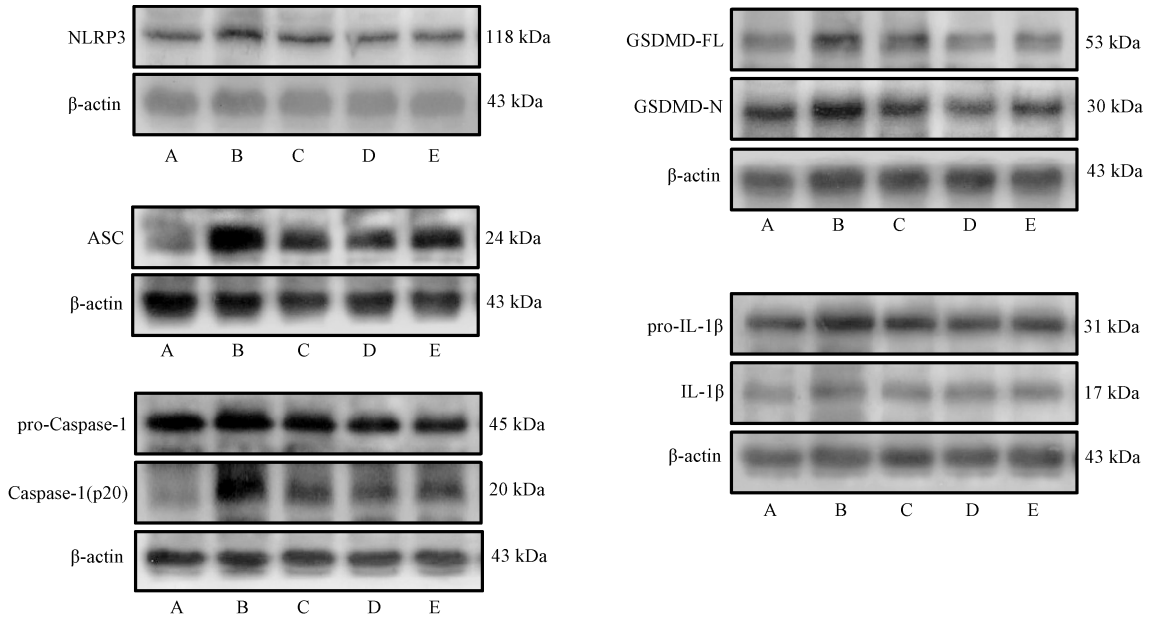
Tab. 2 Comparison of body weight, cardiac index and serum LDH, AST and CK-MB levels in each group of rats ($\bar{x}\pm\text{SEM}$, n=6)

组别	体质量/g	心脏指数	LDH 相对水平	AST/(U·L ⁻¹)	CK-MB/(ng·mL ⁻¹)
正常组	401.67±20.57	3.01±0.09	1.00±0.06	36.02±4.38	16.43±1.30
模型组	339.29±8.45*	2.71±0.03*	1.32±0.04*	52.21±2.39*	26.67±2.23*
DOX+西洋参提取物低剂量组	351.10±8.01#	3.05±0.05#	0.88±0.08#	30.89±3.14#	16.52±2.27#
DOX+西洋参提取物高剂量组	365.17±6.93#	2.84±0.04#	1.01±0.08#	34.85±2.78#	15.13±0.77#
西洋参提取物高剂量组	394.00±15.60	2.92±0.08	0.99±0.09	36.02±4.41	13.06±3.47

注: 与正常组比较, * P<0.05; 与模型组比较, # P<0.05。

3.2 西洋参提取物对 DOX 诱导的大鼠心肌组织 NLRP3 炎症小体相关基因和蛋白表达的影响 与正常组比较, 模型组大鼠心肌组织 *NLRP3*、*ASC*、*CASP1*、*GSDMD*、*IL-1β*、*IL-18* mRNA 表达和 NLRP3、*ASC*、pro-Caspase-1、Caspase-1、GSDMD-FL、GSDMD-N、pro-IL-1β、IL-1β 蛋白表达升高 ($P < 0.05$), 血清 IL-1β 和 IL-18 水平升高 ($P < 0.05$); 与

模型组比较, 西洋参提取物各剂量组大鼠心肌组织 *NLRP3*、*ASC*、*CASP1*、*GSDMD*、*IL-1β*、*IL-18* mRNA 表达和 NLRP3、*ASC*、pro-Caspase-1、Caspase-1、GSDMD-FL、GSDMD-N、pro-IL-1β、IL-1β 蛋白表达降低 ($P < 0.05$), 血清 IL-1β 和 IL-18 水平降低 ($P < 0.05$), 见图 2、表 3~5。



注: A 为正常组, B 为模型组, C~D 为 DOX+西洋参提取物低、高剂量组, E 为西洋参提取物高剂量组。

图 2 各组大鼠心肌组织 NLRP3、ASC、pro-Caspase-1、Caspase-1、GSDMD-FL、GSDMD-N、pro-IL-1β、IL-1β 蛋白条带图

Fig. 2 Protein bands of NLRP3, ASC, pro-Caspase-1, Caspase-1, GSDMD-FL, GSDMD-N, pro-IL-1β and IL-1β in myocardial tissue of rats in each group

表 3 各组大鼠心肌组织 *NLRP3*、*ASC*、*CASP1*、*GSDMD*、*IL-1β*、*IL-18* mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm \text{SEM}$, $n = 6$)

Tab. 3 Comparison of mRNA expressions of *NLRP3*, *ASC*, *CASP1*, *GSDMD*, *IL-1β* and *IL-18* in myocardial tissue of rats in each group ($\bar{x} \pm \text{SEM}$, $n = 6$)

组别	<i>NLRP3</i> /18S	<i>ASC</i> /18S	<i>CASP1</i> /18S	<i>GSDMD</i> /18S	<i>IL-1β</i> /18S	<i>IL-18</i> /18S
正常组	1.00±0.02	1.00±0.05	1.00±0.03	1.00±0.04	1.00±0.07	1.00±0.03
模型组	1.26±0.02*	1.40±0.04*	1.34±0.06*	1.28±0.02*	1.43±0.10*	1.29±0.06*
DOX+西洋参提取物低剂量组	1.08±0.03 [#]	1.08±0.04 [#]	1.10±0.04 [#]	1.06±0.03 [#]	1.09±0.04 [#]	1.02±0.03 [#]
DOX+西洋参提取物高剂量组	1.03±0.04 [#]	1.07±0.07 [#]	1.07±0.02 [#]	1.01±0.04 [#]	1.12±0.04 [#]	1.01±0.04 [#]
西洋参提取物高剂量组	1.03±0.05	1.07±0.03	1.05±0.02	0.97±0.05	1.06±0.05	1.01±0.08

注: 与正常组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, [#] $P < 0.05$ 。

3.3 西洋参提取物对 DOX 诱导的大鼠乳鼠心肌细胞存活率的影响 与正常组比较, 西洋参提取物在 12.5~200.0 μg/mL 范围内对大鼠乳鼠心肌细胞活力无明显影响 ($P > 0.05$), 见表 6。本研究选择 100.0 μg/mL 质量浓度评价西洋参提取物对 DOX 诱导的心肌细胞损伤的影响。与正常组比较, 模型组心肌细胞存活率降低 ($P < 0.05$), 细胞上清液中 LDH 释放增加 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 西洋参提取物组心肌细胞存活率升高 ($P < 0.05$), 细胞上清液中 LDH 水平降低 ($P < 0.05$), 见表 7。

3.4 西洋参提取物对 DOX 诱导的大鼠乳鼠心肌细胞 NLRP3 炎症小体相关基因和蛋白表达的影响 与正常组比较, DOX 组心肌细胞 *NLRP3*、*ASC*、*CASP1*、*GSDMD*、*IL-1β* mRNA 表达和 NLRP3、*ASC*、pro-Caspase-1、Caspase-1、GSDMD-N、pro-IL-1β 蛋白表达升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 西洋参提取物组心肌细胞 *NLRP3*、*ASC*、*CASP1*、*GSDMD*、*IL-1β* mRNA 表达和 NLRP3、*ASC*、pro-Caspase-1、Caspase-1、GSDMD-N、pro-IL-1β 蛋白表达降低 ($P < 0.05$), 见图 3、表 8~9。

表4 各组大鼠心肌组织 NLRP3、ASC、pro-Caspase-1、Caspase-1、GSDMD-FL、GSDMD-N、pro-IL-1β、IL-1β 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm \text{SEM}$, $n=6$)

Tab. 4 Comparison of protein expressions of NLRP3, ASC, pro-Caspase-1, Caspase-1, GSDMD-FL, GSDMD-N, pro-IL-1β and IL-1β in myocardial tissue of rats in each group ($\bar{x} \pm \text{SEM}$, $n=6$)

组别	NLRP3/β-actin	ASC/β-actin	pro-Caspase-1/β-actin	Caspase-1/β-actin
正常组	1.00±0.03	1.00±0.04	1.00±0.04	1.00±0.04
模型组	1.22±0.05*	1.25±0.05*	1.26±0.08*	1.24±0.04*
DOX+西洋参提取物低剂量组	1.00±0.03 [#]	1.03±0.04 [#]	0.99±0.04 [#]	0.99±0.06 [#]
DOX+西洋参提取物高剂量组	1.00±0.05 [#]	1.01±0.05 [#]	1.01±0.03 [#]	0.97±0.04 [#]
西洋参提取物高剂量组	0.98±0.03	1.01±0.05	1.00±0.04	1.03±0.05

组别	GSDMD-FL/β-actin	GSDMD-N/β-actin	pro-IL-1β/β-actin	IL-1β/β-actin
正常组	1.00±0.05	1.00±0.05	1.00±0.06	1.00±0.06
模型组	1.31±0.08*	1.25±0.08*	1.35±0.06*	1.35±0.09*
DOX+西洋参提取物低剂量组	0.96±0.05 [#]	1.00±0.04 [#]	1.05±0.06 [#]	1.06±0.07 [#]
DOX+西洋参提取物高剂量组	0.96±0.06 [#]	0.99±0.06 [#]	1.04±0.06 [#]	1.09±0.05 [#]
西洋参提取物高剂量组	0.95±0.04	0.95±0.05	1.07±0.05	1.05±0.02

注：与正常组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，[#] $P < 0.05$ 。

表5 各组大鼠血清 IL-1β、IL-18 水平比较 (ng/L, $\bar{x} \pm \text{SEM}$, $n=6$)

Tab. 5 Comparison of serum IL-1β and IL-18 levels in rats of each group (ng/L, $\bar{x} \pm \text{SEM}$, $n=6$)

组别	IL-1β	IL-18
正常组	68.71±1.22	290.38±4.81
模型组	82.63±1.79*	320.35±5.48*
DOX+西洋参提取物低剂量组	68.45±2.73 [#]	282.54±6.03 [#]
DOX+西洋参提取物高剂量组	70.02±2.77 [#]	273.45±8.38 [#]
西洋参提取物高剂量组	71.81±1.90	280.95±7.65

注：与正常组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，[#] $P < 0.05$ 。

表6 不同质量浓度西洋参提取物对大鼠乳鼠心肌细胞存活率的影响 ($\bar{x} \pm \text{SEM}$, $n=6$)

Tab. 6 Effects of different concentrations of *Panax quinquefolium* extract on cell viability of neonatal rat cardiomyocytes ($\bar{x} \pm \text{SEM}$, $n=6$)

组别	质量浓度/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	细胞存活率/%
正常组	—	100.00±5.94
西洋参提取物	12.5	95.87±3.55
西洋参提取物	25	91.95±3.09
西洋参提取物	50	91.29±1.55
西洋参提取物	100	87.66±1.74
西洋参提取物	200	94.68±1.28

表8 各组大鼠乳鼠心肌细胞 NLRP3、ASC、CASP1、GSDMD、IL-1β mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm \text{SEM}$, $n=8$)

Tab. 8 Comparison of the mRNA expressions of NLRP3, ASC, CASP1, GSDMD and IL-1β in neonatal rat cardiomyocytes of each group ($\bar{x} \pm \text{SEM}$, $n=8$)

组别	NLRP3/18S	ASC/18S	CASP1/18S	GSDMD/18S	IL-1β/18S
正常组	1.00±0.02	1.00±0.05	1.00±0.04	1.00±0.02	1.00±0.02
DOX 组	1.44±0.04*	1.40±0.04*	1.31±0.03*	1.54±0.05*	1.38±0.03*
DOX+西洋参提取物组	1.07±0.04 [#]	0.98±0.03 [#]	1.00±0.02 [#]	1.06±0.03 [#]	1.01±0.03 [#]
西洋参提取物组	0.96±0.03	1.08±0.03	1.05±0.03	0.97±0.03	1.01±0.04

注：与正常组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，[#] $P < 0.05$ 。

表7 各组大鼠乳鼠心肌细胞存活率和 LDH 水平比较 ($\bar{x} \pm \text{SEM}$, $n=5$)

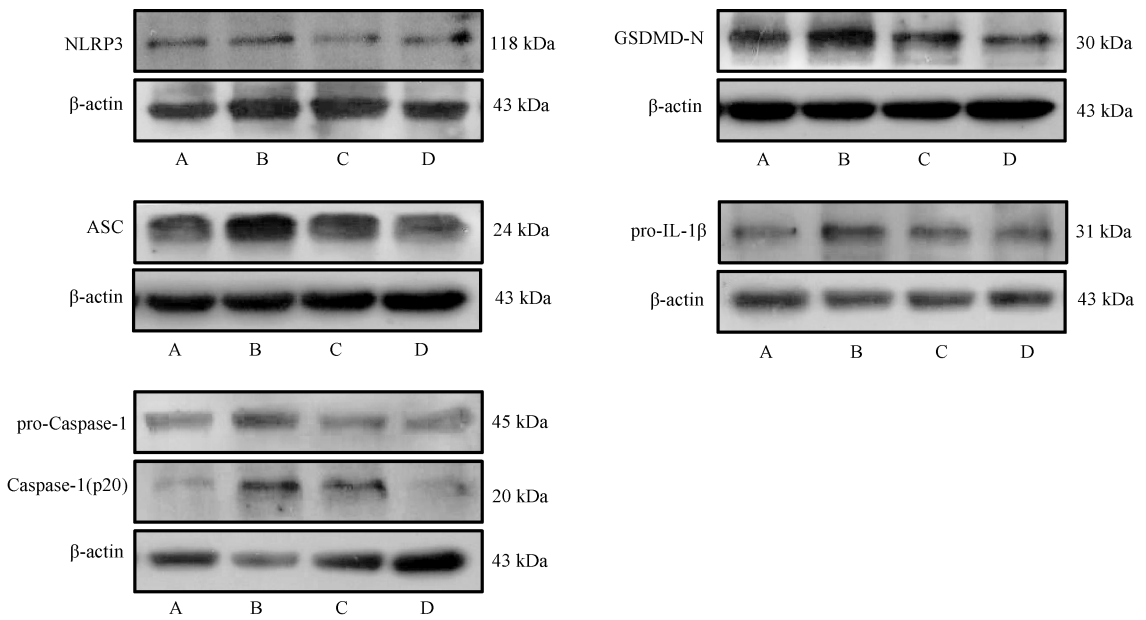
Tab. 7 Comparison of cell viability and LDH level of neonatal rat cardiomyocytes in each group ($\bar{x} \pm \text{SEM}$, $n=5$)

组别	细胞存活率/%	细胞上清液 LDH 相对水平
正常组	100.00±1.82	1.00±0.02
DOX 组	64.41±1.50*	1.85±0.02*
DOX+西洋参提取物组	73.67±2.01 [#]	1.69±0.02 [#]
西洋参提取物组	102.20±2.72	1.11±0.01

注：与正常组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，[#] $P < 0.05$ 。

4 讨论

葱环类心脏毒性可分为急性（化疗后几小时或几天内发生）、早发性慢性（化疗后1年内发生）和迟发性慢性心脏毒性（化疗结束数年后发生），以早发性慢性心脏毒性最常见^[12]。目前，右雷佐生是FDA批准的唯一一种用于防治葱环类心脏毒性的药物，但其可继发不良反应如骨髓抑制和增加继发性血液系统恶性肿瘤风险等，且对肿瘤患者远期生存率产生影响^[13]。其他的一些心脏保护药物如血管紧张素转换酶抑制剂、β受体阻断剂等，在防治葱环类心脏毒性方面尚缺少循证证据。



注：A 为正常组，B 为 DOX 组，C 为 DOX+西洋参提取物组，D 为西洋参提取物组。

图 3 各组大鼠乳鼠心肌细胞 NLRP3、ASC、pro-Caspase-1、Caspase-1、GSDMD-N 和 pro-IL-1β 蛋白条带图

Fig. 3 Protein bands of NLRP3, ASC, pro-Caspase-1, Caspase-1, GSDMD-N and pro-IL-1β in neonatal rat cardiomyocytes of each group

表 9 各组大鼠乳鼠心肌细胞 NLRP3、ASC、pro-Caspase-1、Caspase-1、GSDMD-N、pro-IL-1β 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm \text{SEM}$, $n = 6$)

Tab. 9 Comparison of protein expressions of NLRP3, ASC, pro-Caspase-1, Caspase-1, GSDMD-N and pro-IL-1β in neonatal rat cardiomyocytes of each group ($\bar{x} \pm \text{SEM}$, $n = 6$)

组别	NLRP3/β-actin	ASC/β-actin	pro-Caspase-1/β-actin
正常组	1.00±0.03	1.00±0.06	1.00±0.04
DOX 组	1.26±0.06*	1.30±0.06*	1.27±0.05*
DOX+西洋参提取物组	1.07±0.05 [#]	1.04±0.06 [#]	1.04±0.05 [#]
西洋参提取物组	1.06±0.04	1.00±0.08	0.98±0.04
组别	Caspase-1/β-actin	GSDMD-N/β-actin	pro-IL-1β/β-actin
正常组	1.00±0.03	1.00±0.04	1.00±0.03
DOX 组	1.36±0.04*	1.30±0.05*	1.29±0.05*
DOX+西洋参提取物组	1.06±0.08 [#]	1.04±0.07 [#]	1.10±0.06 [#]
西洋参提取物组	1.09±0.07	1.00±0.06	1.02±0.03

注：与正常组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，[#] $P < 0.05$ 。

中药对葱环类心脏毒性具有良好的防治作用。有研究发现，使用频率 $\geq 10\%$ 的中药有 19 味，包括黄芪、麦冬、丹参、人参、西洋参等^[14]。现代研究表明，西洋参具有免疫调节、抗神经退行性疾病、心血管保护、调节糖脂代谢、抗肿瘤、抗氧化损伤等药理作用，其主要成分是人参皂苷和人参多糖等^[15]。据报道，在标准化疗的基础上，给予非转移性乳腺癌患者每天 1 g 西洋参治疗，可减轻 DOX 所致心功能不全的发生率，预防左心室射血分数的早期下降^[16]。Al-Kuraishy 等^[17]研究证实，西洋参可缓解 DOX 诱导的大鼠心脏损伤，且西洋参与非布司他联用后作用更为显著。另外，西洋参中的有效成分如人参皂苷 Rb1、Rg1、Rg2、Rg3、

Rh2、F1^[18-19]以及人参多糖^[20]等都可缓解葱环类心脏毒性。有研究发现，西洋参中的 n-3 多不饱和脂肪酸 FA (18:4) 也是西洋参抗 DOX 心脏毒性的活性成分，可通过抑制铁死亡而减轻 DOX 心脏毒性^[21]。本研究体内实验结果表明，给予西洋参提取物干预后，大鼠心脏指数增加，心肌组织病理形态改善，血清 LDH、CK-MB 及 AST 水平降低。体外实验结果显示，西洋参提取物可抑制 DOX 诱导的心肌细胞活力降低及上清液中 LDH 水平升高。由此可知，西洋参提取物对 DOX 诱导的大鼠心脏毒性具有防治作用，本研究结果与上述文献报道一致。

NLRP3 炎症小体复合物是由传感蛋白

(NLRP3)、衔接蛋白(ASC)和效应蛋白(pro-Caspase-1)组成,是目前研究最多的一种炎症小体。研究显示,DOX诱导的心脏毒性与NLRP3炎症小体激活有关,其激活机制主要涉及ROS过量、氧化应激、线粒体功能障碍、自噬失调、细胞凋亡炎症以及细胞焦亡等^[22]。有研究显示,西洋参可减轻心肌梗死后心肌纤维化和炎症反应,与其激活沉默信息调节因子1(SIRT1)、抑制NLRP3炎症小体和TGF- β 受体1/Smads信号通路有关^[23]。Yu等^[24]研究表明,西洋参总皂苷对大鼠心肌缺血再灌注无复流的保护作用与其调节TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路、部分抑制NLRP3炎症小体激活有关。另外,人参皂苷Rg1可改善糖尿病大鼠心肌氧化应激和炎症反应,下调NLRP3通路中的NLRP3、ASC和IL-1 β mRNA表达^[25],人参皂苷Rg3可通过抑制NLRP3炎症小体激活和氧化应激而缓解血管紧张素II诱导的心肌细胞肥大^[26]。以上结果提示,西洋参的心脏保护作用与其抑制NLRP3炎症小体表达有关。本研究体内实验结果表明,给予西洋参提取物后,心肌组织NLRP3炎症小体相关基因和蛋白的表达下调,大鼠血清IL-1 β 、IL-18水平降低。体外实验结果显示,给予西洋参提取物可抑制DOX诱导的NLRP3炎症小体相关基因和蛋白表达上调,与体内结果一致。

综上所述,本研究通过体内、体外实验证实西洋参提取物可缓解DOX诱导的大鼠心脏毒性,其作用机制与其抑制NLRP3炎症小体有关。

参考文献:

[1] Qiu Y, Jiang P, Huang Y. Anthracycline-induced cardiotoxicity: mechanisms, monitoring, and prevention[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2023, 10: 1242596.

[2] Vitale R, Marzocco S, Popolo A. Role of oxidative stress and inflammation in doxorubicin-induced cardiotoxicity: a brief account[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(13): 7477.

[3] Maayah Z H, Takahara S, Dyck J R B. The beneficial effects of reducing NLRP3 inflammasome activation in the cardiotoxicity and the anti-cancer effects of doxorubicin[J]. *Arch Toxicol*, 2021, 95(1): 1-9.

[4] 高 阳, 宋晓耘, 刘 胜, 等. 乳腺癌抗肿瘤药物心脏毒性的研究进展及中医药干预[J]. *世界中医药*, 2024, 19(19): 3045-3051.

[5] 张 越, 杨 焱, 马伊锐. 化疗前后肿瘤患者的证候规律[J]. *中国老年学杂志*, 2015, 35(10): 2724-2726.

[6] 刘小英, 曹治云, 俞征宙, 等. 杜建应用扶正清解法治疗肿瘤的经验[J]. *江苏中医药*, 2016, 48(2): 31-33.

[7] 朱 旭, 宋凤丽, 李 全, 等. 李全教授应用益气养阴法治

疗恶性肿瘤经验[J]. *中华中医药杂志*, 2015, 30(4): 1096-1098.

[8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.

[9] Wan Y, Wang J, Xu J F, et al. *Panax ginseng* and its ginsenosides: potential candidates for the prevention and treatment of chemotherapy-induced side effects[J]. *J Ginseng Res*, 2021, 45(6): 617-630.

[10] 张 浩, 丁小云, 王 虎, 等. 心悅胶囊对心脏肥大大鼠甘油磷脂代谢酶表达的影响[J]. *中成药*, 2024, 46(11): 3594-3602.

[11] Zhang H, Ding X, Qiu Y, et al. Preventive effect of imperatorin against doxorubicin-induced cardiotoxicity through suppression of NLRP3 inflammasome activation[J]. *J Nat Med*, 2025, 79(1): 95-106.

[12] Bernstein D. Anthracycline cardiotoxicity: worrisome enough to have you quaking? [J]. *Circ Res*, 2018, 122(2): 188-190.

[13] Reichardt P, Tabone M D, Mora J, et al. Risk-benefit of dexrazoxane for preventing anthracycline-related cardiotoxicity: re-evaluating the European labeling[J]. *Future Oncol*, 2018, 14(25): 2663-2676.

[14] 李艳阳, 王云姣, 韩德军, 等. 基于数据挖掘的中医药治疗抗肿瘤药物心脏毒性用药规律研究[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2022, 28(1): 138-141.

[15] Mancuso C, Santangelo R. *Panax ginseng* and *Panax quinquefolius*: from pharmacology to toxicology[J]. *Food Chem Toxicol*, 2017, 107(Pt A): 362-372.

[16] Hamidian M, Foroughinia F, Haghight S, et al. Protective effects of *Panax ginseng* against doxorubicin-induced cardiac toxicity in patients with non-metastatic breast cancer: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial[J]. *J Oncol Pharm Pract*, 2023, 29(6): 1306-1316.

[17] Al-Kuraishy H M, Al-Hussainy H A, Al-Gareeb A I, et al. Combination of *Panax ginseng* C. A. Mey and febuxostat boosted cardioprotective effects against doxorubicin-induced acute cardiotoxicity in rats[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 905828.

[18] Zare-Zardini H, Hedayati-Goudarzi M T, Alizadeh A, et al. A review of cardioprotective effect of ginsenosides in chemotherapy-induced cardiotoxicity[J]. *Biomed Eng Online*, 2024, 23(1): 128.

[19] Zhang Y, Ma J, Liu S, et al. Ginsenoside F1 attenuates pirarubicin-induced cardiotoxicity by modulating Nrf2 and AKT/Bcl-2 signaling pathways[J]. *J Ginseng Res*, 2023, 47(1): 106-116.

[20] Chen Y, Wang L, Liu T, et al. Inhibitory effects of *Panax ginseng* glycoproteins in models of doxorubicin-induced cardiac toxicity *in vivo* and *in vitro*[J]. *Food Funct*, 2021, 12(21): 10862-10874.

[21] Hu K, Wang H, Wang H, et al. Lipid discovered in American ginseng alleviates doxorubicin-induced cardiotoxicity by inhibiting cardiomyocyte ferroptosis[J]. *Fitoterapia*, 2024, 177: 106097.

- [22] Shackebaei D, Yari K, Rahimi N, *et al.* Targeting the NLRp3 by natural compounds; therapeutic strategies to mitigate doxorubicin-induced cardiotoxicity[J]. *Cell Biochem Biophys*, 2025, 83(3): 2779-2791.
- [23] Xu H, Pang M, Hu C, *et al.* *Panax ginseng* exerts cardioprotective effect post myocardial infarction by attenuating myocardial fibrosis and inflammation through SIRT1 signaling pathways[J]. *J Ginseng Res*, 2025, 49(2): 197-207.
- [24] Yu P, Li Y, Fu W, *et al.* *Panax quinquefolius* L. Saponins protect myocardial ischemia reperfusion no-reflow through inhibiting the activation of NLRP3 inflammasome via TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 11: 607813.
- [25] Qin Q, Lin N, Huang H, *et al.* Ginsenoside Rg1 ameliorates cardiac oxidative stress and inflammation in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2019, 12: 1091-1103.
- [26] Ren B, Feng J, Yang N, *et al.* Ginsenoside Rg3 attenuates angiotensin II-induced myocardial hypertrophy through repressing NLRP3 inflammasome and oxidative stress via modulating SIRT1/NF- κ B pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 98: 107841.

基于 IL-17A/Wnt/ β -catenin 信号通路探讨五劳七损方对强直性脊柱炎小鼠病理性新骨形成的影响

杨娟娟¹, 陈平¹, 王海东^{1*}, 张智敏², 李浩林², 苏瑾², 金芳梅¹, 阙丽丽¹, 年芳红¹

(1. 甘肃省中医院, 甘肃兰州 730050; 2. 甘肃中医药大学中医临床学院, 甘肃兰州 730000)

摘要: **目的** 探讨五劳七损方对强直性脊柱炎(AS)小鼠病理性新骨形成的作用机制。**方法** 采用蛋白聚糖(PG)诱导建立AS小鼠模型,将造模成功的AS小鼠随机分为模型组、塞来昔布组[塞来昔布胶囊 26 mg/(kg·d)]、抑制剂组[抗小鼠IL-17A抗体, 10 mg/(kg·周)]和中药低、中、高剂量组[五劳七损方 11.38、22.75、45.5 g/(kg·d)],另设空白组,每组8只。给药4周后,观察并采用关节炎评分评估小鼠四肢、足趾肿胀情况;ELISA法检测血清炎症因子(IL-17A、IL-23、IL-6、IL-1 β 和TNF- α)水平;流式细胞术检测脾脏中Th17细胞和Treg细胞比例;Micro-CT、HE和番红O-固绿染色观察脊柱椎间盘间隙及病理形态学变化;RT-qPCR和Western blot法检测脊柱韧带组织IL-17A、Wnt3a、Dkk-1、GSK-3 β 、 β -catenin、Runx2、Osx、OCN mRNA和蛋白表达。**结果** 与模型组比较,塞来昔布组和中药中、高剂量组小鼠四肢关节发红、肿胀均减轻;关节炎指数降低($P<0.01$);血清IL-17A、IL-23、IL-6、IL-1 β 和TNF- α 水平降低($P<0.01$);脾脏中Th17细胞比例及Th17/Treg比值降低($P<0.01$),Treg细胞比例升高($P<0.01$);脊柱椎体关节结构融合程度减轻,椎间盘结构变窄及破坏缓解,骨基质形成减少。与模型组比较,抑制剂组和中药中、高剂量组脊柱韧带组织IL-17A、Wnt3a、 β -catenin、Runx2、Osx、OCN mRNA和蛋白表达均降低($P<0.05$, $P<0.01$),Dkk-1、GSK-3 β mRNA和蛋白表达均升高($P<0.01$)。**结论** 五劳七损方可有效延缓AS病理性新骨形成,其作用机制与抑制IL-17A/Wnt/ β -catenin信号通路活性,下调成骨分化相关因子水平有关。

关键词: 五劳七损方;强直性脊柱炎;IL-17A/Wnt/ β -catenin信号通路;病理性新骨形成

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)03-0806-10

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.03.013

收稿日期: 2025-07-16

基金项目: 国家中医药管理局高水平中医药重点学科建设项目(国中医药人教函[2022]226号);甘肃省科技计划资助(23JRRA1535)

作者简介: 杨娟娟(1993—),女,博士,主治医师,从事中医药防治风湿病的研究。E-mail: 1711638266@qq.com

*通信作者: 王海东(1964—),男,教授,主任医师,从事中医药防治风湿病的研究。E-mail: whaidong5895@163.com