

基于 miR-26a-5p/WNT5A 信号通路探讨天麻素防治阵发性房颤大鼠的作用机制

刘魁智, 宣学习, 周 芃, 袁孝伟, 朱自强*

郑州市第七人民医院 心血管内科, 河南 郑州 450000

摘要: **目的** 基于 miR-26a-5p/WNT5A 信号通路探讨天麻素防治阵发性房颤大鼠的作用机制。**方法** 大鼠随机分为对照组、模型组、天麻素 (16.665、66.660 mg/kg) 组、胺碘酮组、天麻素+inhibitor NC 组、天麻素+miR-26a-5p inhibitor 组, 每组 12 只。检测房颤诱发时间、房颤持续时间、左心室分数缩短 (LVFS)、左心室射血分数 (LVEF)、左心房直径、左心房面积的变化; Masson 染色检测心房肌组织纤维化; 免疫组化染色检测心房肌组织 α -平滑肌肌动蛋白 (α -SMA)、I 型胶原 (Collagen I) 阳性表达面积; qRT-PCR 检测心房肌组织 miR-26a-5p 水平; Western blotting 检测心房肌组织 WNT5A 表达。**结果** 与模型组比较, 天麻素组心房肌组织纤维化程度减轻, 房颤诱发时间延长, 房颤持续时间缩短, LVFS、LVEF 增加, 左心房直径、左心房面积减少, 心房肌组织中 miR-26a-5p 水平升高, α -SMA、Collagen I 阳性表达面积及 WNT5A 表达降低 ($P < 0.05$)。miR-26a-5p inhibitor 逆转了天麻素对阵发性房颤大鼠心房结构重构及心房肌组织纤维化的抑制作用。**结论** 天麻素可抑制阵发性房颤大鼠心房结构重构及心房肌组织纤维化, 该机制可能与上调 miR-26a-5p、抑制 WNT5A 表达有关。

关键词: 天麻素; 阵发性房颤; 心房结构重构; 纤维化; miR-26a-5p/WNT5A 通路; 左心室分数缩短; 左心室射血分数; α -平滑肌肌动蛋白; I 型胶原

中图分类号: R285.5; R286.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2025)09-2147-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2025.09.002

Mechanism of gastrodin against paroxysmal atrial fibrillation via miR-26a-5p/WNT5A pathway in rat models

LIU Kuizhi, XUAN Xuexi, ZHOU Peng, YUAN Xiaowei, ZHU Ziqiang

Department of Cardiovascular Medicine, The 7th People's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou 450000, China

Abstract: Objective To explore the mechanism of gastrodin in preventing and treating paroxysmal atrial fibrillation in rats model based on miR-26a-5p/WNT5A signaling pathway. **Methods** Rats were randomly divided into control group, model group, gastrodin (16.665、66.660 mg/kg) group, amiodarone group, gastrodin + inhibitor NC group, and gastrodin + miR-26a-5p inhibitor group, with 12 rats in each group. The induction time and duration of atrial fibrillation, LVFS, LVEF, left atrial diameter, left atrial area were detected in each group. Atrial muscle tissue fibrosis was detected by Masson staining. Immunohistochemical staining was used to indicate positive expression area of α -SMA and Collagen I in atrial muscle tissue. The level of miR-26a-5p in atrial muscle tissue was measured by qRT-PCR. Western blotting was used to detect the WNT5A expression in atrial muscle tissue. **Results** Compared with the model group, the degree of atrial muscle tissue fibrosis in the gastrodin group was alleviated, the induction time of atrial fibrillation was prolonged, the duration of atrial fibrillation was shortened, LVFS and LVEF were increased, and the left atrial diameter and left atrial area were decreased ($P < 0.05$). The level of miR-26a-5p was significantly increased, while positive expression area of α -SMA and Collagen I positive cells was decreased, and the expression of WNT5A was also decreased in atrial muscle tissue ($P < 0.05$). miR-26a-5p inhibitor reversed the inhibitory effect of gastrodin on atrial structural remodeling and atrial muscle tissue fibrosis in paroxysmal atrial fibrillation rats. **Conclusion** Gastrodin can inhibit atrial structural remodeling and atrial muscle tissue fibrosis in rats with paroxysmal atrial fibrillation, which may be related to the upregulation of miR-26a-5p and the downregulation of WNT5A expression. **Key words:** gastrodin; paroxysmal atrial fibrillation; atrial structure reconstruction; fibrosis; miR-26a-5p/WNT5A pathway; LVFS; LVEF; α -SMA; Collagen I

收稿日期: 2025-06-09

基金项目: 河南省医学科技攻关计划联合共建项目 (LHGJ20230738)

作者简介: 刘魁智, 男, 主治医师, 硕士, 研究方向为心血管病。E-mail: lkuizhi010407@163.com

*通信作者: 朱自强, 男, 副主任医师, 研究方向为心律失常、冠心病等心血管病。E-mail: 1393946386@qq.com

阵发性房颤是房颤的一种早期表现形式,其特点是发作持续时间较短,若未得到有效控制,可能进展为持久型房颤类型^[1-2]。目前多使用抗心律失常药物治疗阵发性房颤,但长期使用该药物易产生肺纤维化、肝硬化等不良反应^[3]。越来越多的研究表明,心房结构重构及心房肌纤维化在阵发性房颤进展中发挥着重要调节作用^[4-5]。因此,开发新抑制心房结构重构及心房肌纤维化药物对于改善阵发性房颤具有积极意义。天麻素是天麻的主要生物活性成分,具有抗炎、镇痛、心肌保护等作用^[6-7]。已有研究报道,天麻素可改善小鼠病理性心脏肥大^[8]。但关于天麻素对阵发性房颤大鼠心房结构重构及心房肌纤维化的影响鲜有报道。相关研究显示,上调 miR-26a-5p 或抑制 WNT5A 可改善心房颤动物模型的心肌纤维化,且 miR-26a-5p 与 WNT5A 可直接靶向结合^[9-11]。基于此,本实验主要探究天麻素对阵发性房颤大鼠模型心房结构重构及心房肌纤维化的影响及机制。

1 材料

1.1 动物与细胞株

雄性 SD 大鼠,84 只,6 周龄,体质量 200~210 g,购自广东维通利华实验动物技术有限公司,动物生产许可证号为 SCXK(粤)2022-0063。将大鼠置于温度控制的动物房(23±2)℃,光照/黑暗循环 12 h,并给予充足的食物和水。实验方案经郑州市第七人民医院伦理委员会批准(2023-12-009)。大鼠心肌成纤维 RCF 细胞购自广州华拓生物科技有限公司。

1.2 药物与试剂

天麻素(质量分数>98%,批号 G0468,上海腾准生物科技有限公司);乙酰胆碱(质量分数≥98%,批号 51-84-3,四川维克奇生物科技有限公司);氯化钙(批号 012316,赛默飞世尔科技有限公司);盐酸胺碘酮片(规格 0.2 g,批号 20231103,赛诺菲制药有限公司);miR-26a-5p 抑制剂(miR-26a-5p inhibitor,批号 20241103,美国 MCE 公司)及抑制剂阴性对照(inhibitor NC,批号 20241025,美国 MCE 公司);兔源一抗 α-平滑肌肌动蛋白(α-SMA)、I 型胶原(Collagen I)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)、WNT5A 及二抗(货号 ab5694、ab34710、ab181602、ab72583、ab6721,英国 Abcam 公司)。

1.3 主要仪器

DC-80 彩色多普勒超声诊断仪(深圳迈瑞生物

医疗电子股份有限公司);MyLab™X8E 小动物超声仪(百胜医疗设备有限公司);IX83 光学显微镜(日本奥林巴斯公司);CFX384 荧光定量 PCR 仪(美国伯乐公司);EPS 300 蛋白电泳仪(上海天能科技有限公司)。

2 方法

2.1 动物分组与给药

2.1.1 药物溶液配制 (1)天麻素溶液:分别称取 16.665 mg 和 66.660 mg 天麻素溶于 1 mL 生理盐水;取 0.1 mL 母液加 0.9 mL 生理盐水稀释,获得质量浓度为 1.666 5、6.666 mg/mL 的天麻素溶液。(2)胺碘酮溶液:称取 80 mg 胺碘酮溶于 1 mL 生理盐水配制成 80 mg/mL 母液;取 0.1 mL 母液加 0.9 mL 生理盐水稀释为 8 mg/mL 工作液。(3)乙酰胆碱-氯化钙混合液:称取 600 mg 乙酰胆碱溶于 10 mL 生理盐水,制备 6 g/L 乙酰胆碱母液;称取 10 g 无水氯化钙溶于 10 mL 生理盐水,制备 1 g/mL 氯化钙母液;取 100 μL 乙酰胆碱母液和 100 μL 氯化钙母液加入到 99.8 mL 生理盐水中,即获得 60 mg/L 乙酰胆碱+10 g/L 氯化钙混合液。

2.1.2 分组与给药 将大鼠随机分为(1)对照组:ig 生理盐水(10 mL/kg)+尾 iv 生理盐水(1 mL/kg);(2)模型组:同对照组;(3)天麻素组:分别 ig 天麻素 16.665、66.660 mg/kg^[12];(4)胺碘酮组:ig 胺碘酮 80 mg/kg^[13];(5)天麻素+inhibitor NC 组:ig 天麻素 66.660 mg/kg+尾 iv inhibitor NC 50 nmol/kg;(6)天麻素+miR-26a-5p inhibitor 组:ig 天麻素 66.660 mg/kg+尾 iv miR-26a-5p inhibitor 50 nmol/kg。每组 12 只大鼠。所有大鼠均按照上述方式连续给药 24 d,1 次/d。第 25~31 天,对照组尾 iv 生理盐水(1 mL/kg),其余各组均尾 iv 乙酰胆碱-氯化钙混合液,注射体积 1 mL/kg^[13],以建立阵发性房颤模型,同时维持给予相应药物,连续给药 7 d。

2.2 大鼠房颤诱发时间及持续时间的检测

末次处理 24 h 后,采用 LabChart 软件记录所有大鼠乙酰胆碱-氯化钙混合液注射时间点及房颤诱导后的起止时间点,分析房颤诱发时间及持续时间。

2.3 超声诊断仪检测大鼠心房结构重构指标

通过彩色多普勒超声诊断仪检测麻醉状态下,大鼠的左心室分数缩短(LVFS)、左心室射血分数(LVEF)心房结构重构指标。

2.4 超声仪检测大鼠左心房直径、左心房面积

使用 MyLab™X8E 小动物超声仪配备高频线阵探头 (SL1543, 8~15 MHz), 在二维超声模式下采集大鼠胸骨旁左心室长轴切面动态图像 (帧率≥200 fps, 深度 2.5 cm, 增益 55 dB), 记录左心房直径及面积。

2.5 Masson 染色检测大鼠心房肌组织病理

各组随机取 6 只大鼠, 处死后收集心房肌组织, 用 4%多聚甲醛固定组织 24 h, 随后进行石蜡包埋。将石蜡包埋组织切成 5 μm 的切片, 行 Masson 染色后观察组织纤维化程度。

2.6 免疫组化染色检测大鼠心房肌组织 α-SMA、Collagen I 阳性表达面积

取 2.5 项下的心房肌组织, 经脱蜡、水化及抗原修复后, 用 3% H₂O₂阻断内源性过氧化物酶活性, 5%牛血清白蛋白阻断非特异性结合位点。随后分别加入一抗 α-SMA、Collagen I, 4 ℃孵育过夜。PBS 冲洗后, 加入二抗, 室温孵育 1 h。DAB 显色, 苏木素复染, 中性树胶封片。于光学显微镜下观察并记录心房肌组织 α-SMA、Collagen I 阳性表达面积。

2.7 qRT-PCR 检测大鼠心房肌组织的 miR-26a-5p 表达

各组取 6 只大鼠, 处死后收集心房肌组织。Trizol 试剂提取心房肌组织总 RNA, 并将提取的 RNA 逆转录为 cDNA。以 cDNA 为模板进行 qRT-PCR 反应。U6 作为内参标准化 miR-26a-5p 表达, 2^{-ΔΔC_t} 法计算 miR-26a-5p 表达量。引物序列: U6 正向: 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3', U6 反向: 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'; miR-26a-5p 正向: 5'-TCAAGTAATCCAGGATAGGCT-3', miR-26a-

5p 反向: 5'-CCAGTGCAGGGTCCGAGGT-3'。

2.8 Western blotting 检测大鼠心房肌组织 WNT5A 蛋白表达

取心房肌组织, 用 RIPA 缓冲液提取组织总蛋白, BCA 法定量蛋白浓度。取 30 μg 总蛋白进行 10% SDS-PAGE 电泳分离, 随即转移至聚偏二氟乙烯膜上。用 5%脱脂牛奶封闭处理后, 将膜与一抗 GAPDH、WNT5A 4 ℃过夜孵育。次日, 加入二抗室温孵育 1 h。加入 ECL 试剂观察蛋白印迹。Image J 软件定量免疫印迹条带的灰度值。

2.9 荧光素酶报告实验验证 miR-26a-5p、WNT5A 的靶向关系

构建 WNT5A 的野生型 (WNT5A-WT) 与突变型 (WNT5A-MUT) 荧光素酶报告质粒, 将 WNT5A-WT、WNT5A-MUT 分别与 miR-26a-5p mimic 或 mimic NC 共转染至 RCF 细胞, 24 h 后测定荧光素酶活性。

2.10 统计学分析

所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 GraphPad Prism 9.0 版软件进行相应的统计分析。多组间比较采用单因素方差分析和 SNK-q 事后检验。

3 结果

3.1 天麻素对阵发性房颤大鼠房颤诱发时间、持续时间的影响

与模型组比较, 天麻素组、胺碘酮组大鼠的房颤诱发时间延长, 房颤持续时间缩短 ($P<0.05$)。与天麻素 66.660 mg/kg 组、天麻素+inhibitor NC 组大鼠比较, 天麻素+miR-26a-5p inhibitor 组大鼠房颤诱发时间缩短, 房颤持续时间延长 ($P<0.05$), 见表 1。

表 1 大鼠房颤诱发时间、持续时间变化 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 1 Changes in the induction time and duration of atrial fibrillation in rats ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量	房颤诱发时间/s	房颤持续时间/s
对照	—	—	—
模型	—	0.81±0.07	12.15±0.73
天麻素	16.665 mg·kg ⁻¹	1.06±0.09 [#]	10.01±0.61 [#]
	66.660 mg·kg ⁻¹	1.98±0.12 ^{#&}	5.86±0.32 ^{#&}
胺碘酮	80 mg·kg ⁻¹	1.96±0.13 ^{#&}	5.83±0.34 ^{#&}
天麻素+inhibitor NC	66.660 mg·kg ⁻¹ +50 nmol·kg ⁻¹	1.97±0.14	5.81±0.33
天麻素+miR-26a-5p inhibitor	66.660 mg·kg ⁻¹ +50 nmol·kg ⁻¹	1.34±0.12 ^{@▲}	7.66±0.41 ^{@▲}

与模型组比较: [#] $P<0.05$; 与天麻素 16.665 mg·kg⁻¹ 组比较: [&] $P<0.05$; 与天麻素 66.660 mg·kg⁻¹ 组比较: [@] $P<0.05$; 与天麻素+inhibitor NC 组比较: [▲] $P<0.05$ 。

[#] $P<0.05$ vs model group; [&] $P<0.05$ vs gastrodin 16.665 mg·kg⁻¹ group; [@] $P<0.05$ vs gastrodin 66.660 mg·kg⁻¹ group; [▲] $P<0.05$ vs gastrodin+inhibitor NC group.

3.2 天麻素对阵发性房颤大鼠心功能的影响

与模型组比较,天麻素组、胺碘酮组的 LVFS、LVEF 显著升高 ($P<0.05$)。与天麻素 66.660 mg/kg 组、天麻素+inhibitor NC 组比较,天麻素+miR-26a-5p inhibitor 组 LVFS、LVEF 显著降低 ($P<0.05$),见表 2。

3.3 天麻素对阵发性房颤大鼠左心房直径、左心房面积的影响

与模型组比较,天麻素组、胺碘酮组左心房直

径、左心房面积显著降低 ($P<0.05$)。与天麻素 66.660 mg/kg 组、天麻素+inhibitor NC 组比较,天麻素+miR-26a-5p inhibitor 组左心房直径、左心房面积显著升高 ($P<0.05$),见表 3。

3.4 天麻素对阵发性房颤大鼠心房肌组织纤维化的影响

对照组心房肌排列整齐,未见明显呈蓝染的胶原纤维沉积;模型组心房肌排列紊乱无序,且有大量呈蓝染的胶原纤维沉积;与模型组比较,天麻素

表 2 大鼠 LVFS、LVEF 变化 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)
Table 2 Changes of LVFS and LVEF in rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

组别	剂量	LVFS/%	LVEF/%
对照	—	48.16±2.57	78.86±4.11
模型	—	25.37±1.32*	45.56±2.71*
天麻素	16.665 mg·kg ⁻¹	31.18±1.68 [#]	51.61±2.63 [#]
	66.660 mg·kg ⁻¹	41.22±2.23 ^{#&}	70.88±3.82 ^{#&}
胺碘酮	80 mg·kg ⁻¹	41.10±2.43 ^{#&}	70.81±3.90 ^{#&}
天麻素+inhibitor NC	66.660 mg·kg ⁻¹ +50 nmol·kg ⁻¹	41.08±2.18	69.99±3.76
天麻素+miR-26a-5p inhibitor	66.660 mg·kg ⁻¹ +50 nmol·kg ⁻¹	35.36±1.92 ^{@▲}	61.67±3.46 ^{@▲}

与对照组比较: * $P<0.05$; 与模型组比较: [#] $P<0.05$; 与天麻素 16.665 mg·kg⁻¹ 组比较: [&] $P<0.05$; 与天麻素 66.660 mg·kg⁻¹ 组比较: [@] $P<0.05$; 与天麻素+inhibitor NC 组比较: [▲] $P<0.05$ 。

* $P<0.05$ vs control group; [#] $P<0.05$ vs model group; [&] $P<0.05$ vs gastrodin 16.665 mg·kg⁻¹ group; [@] $P<0.05$ vs gastrodin 66.660 mg·kg⁻¹ group; [▲] $P<0.05$ vs gastrodin+inhibitor NC group.

表 3 大鼠左心房直径、左心房面积变化 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)
Table 3 Changes in left atrial diameter and left atrial area of rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

组别	剂量	左心房直径/mm	左心房面积/mm ²
对照	—	3.61±0.19	13.37±0.69
模型	—	5.88±0.30*	21.78±1.18*
天麻素	16.665 mg·kg ⁻¹	5.10±0.27 [#]	18.89±0.97 [#]
	66.660 mg·kg ⁻¹	4.03±0.25 ^{#&}	14.93±0.83 ^{#&}
胺碘酮	80 mg·kg ⁻¹	4.01±0.23 ^{#&}	14.85±0.79 ^{#&}
天麻素+inhibitor NC	66.660 mg·kg ⁻¹ +50 nmol·kg ⁻¹	4.00±0.22	14.81±0.77
天麻素+miR-26a-5p inhibitor	66.660 mg·kg ⁻¹ +50 nmol·kg ⁻¹	4.75±0.28 ^{@▲}	17.59±0.91 ^{@▲}

与对照组比较: * $P<0.05$; 与模型组比较: [#] $P<0.05$; 与天麻素 16.665 mg·kg⁻¹ 组比较: [&] $P<0.05$; 与天麻素 66.660 mg·kg⁻¹ 组比较: [@] $P<0.05$; 与天麻素+inhibitor NC 组比较: [▲] $P<0.05$ 。

* $P<0.05$ vs control group; [#] $P<0.05$ vs model group; [&] $P<0.05$ vs gastrodin 16.665 mg·kg⁻¹ group; [@] $P<0.05$ vs gastrodin 66.660 mg·kg⁻¹ group; [▲] $P<0.05$ vs gastrodin+inhibitor NC group.

组、胺碘酮组心房肌组织纤维化程度减轻;与天麻素 66.660 mg/kg 组、天麻素+inhibitor NC 组比较,天麻素+miR-26a-5p inhibitor 组心房肌组织纤维化程度加重,见图 1。

3.5 天麻素对阵发性房颤大鼠心房肌组织 α -SMA、Collagen I 表达的影响

与模型组比较,天麻素组、胺碘酮组心房肌组织 α -SMA、Collagen I 阳性表达面积显著降低 ($P<$

0.05)。与天麻素 66.660 mg/kg 组、天麻素+inhibitor NC 组比较,天麻素+miR-26a-5p inhibitor 组心房肌组织 α -SMA、Collagen I 阳性表达面积显著升高 ($P<0.05$),见图 2、表 4。

3.6 天麻素对阵发性房颤大鼠心房肌组织 miR-26a-5p mRNA 及 WNT5A 蛋白表达的影响

与模型组比较,天麻素组、胺碘酮组心房肌组织 miR-26a-5p mRNA 表达显著升高,WNT5A 蛋白

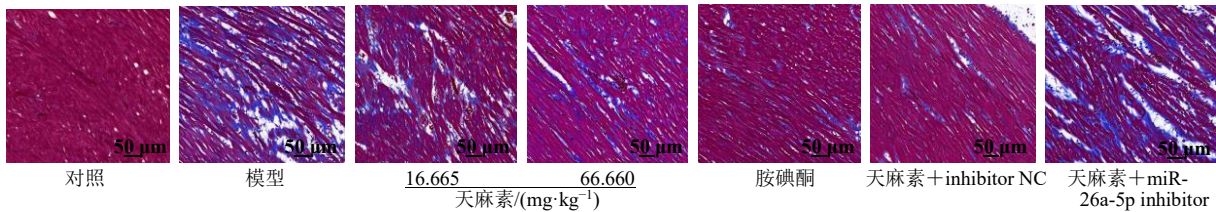


图 1 心房肌组织纤维化 (Masson 染色, ×200)

Fig. 1 Atrial muscle tissue fibrosis (Masson staining, ×200)

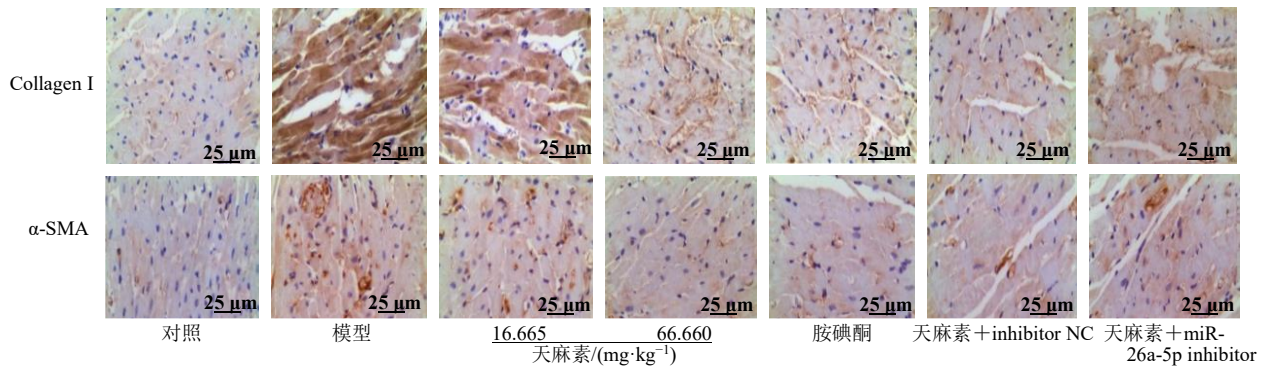


图 2 各组心房肌组织 α-SMA、Collagen I 表达 (免疫组化染色, ×400)

Fig. 2 Expressions of α-SMA and Collagen I in atrial muscle tissues of each group (Immunohistochemical staining, ×400)

表 4 大鼠心房肌组织 α-SMA、Collagen I 阳性表达面积变化 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 4 Changes in the number of α-SMA and Collagen I positive expression area in rat atrial muscle tissue ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	剂量	α-SMA 阳性表达面积/%	Collagen I 阳性表达面积/%
对照	—	3.23±0.19	5.67±0.35
模型	—	14.65±0.84*	19.88±1.01*
天麻素	16.665 mg·kg ⁻¹	11.11±0.69 [#]	15.81±0.86 [#]
	66.660 mg·kg ⁻¹	6.03±0.34 ^{#&}	8.78±0.43 ^{#&}
胺碘酮	80 mg·kg ⁻¹	6.10±0.32 ^{#&}	8.82±0.51 ^{#&}
天麻素+inhibitor NC	66.660 mg·kg ⁻¹ +50 nmol·kg ⁻¹	6.11±0.33	8.83±0.53
天麻素+miR-26a-5p inhibitor	66.660 mg·kg ⁻¹ +50 nmol·kg ⁻¹	9.78±0.52 ^{@▲}	13.65±0.72 ^{@▲}

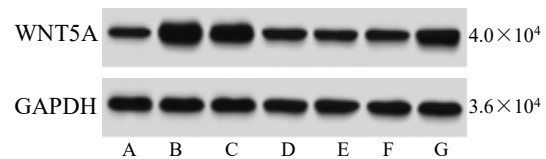
与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$; 与天麻素 16.665 mg·kg⁻¹ 组比较: [#] $P < 0.05$; 与天麻素 66.660 mg·kg⁻¹ 组比较: [@] $P < 0.05$; 与天麻素+inhibitor NC 组比较: [▲] $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group; [&] $P < 0.05$ vs gastrodin 16.665 mg·kg⁻¹ group; [@] $P < 0.05$ vs gastrodin 66.660 mg·kg⁻¹ group; [▲] $P < 0.05$ vs gastrodin+inhibitor NC group.

表达水平降低 ($P < 0.05$)。与天麻素 66.660 mg/kg 组、天麻素+inhibitor NC 组比较, 天麻素+miR-26a-5p inhibitor 组心房肌组织 *miR-26a-5p* 水平显著降低, WNT5A 蛋白表达升高 ($P < 0.05$), 见图 3、表 5。

3.7 miR-26a-5p 靶向调控 WNT5A

miR-26a-5p 与 WNT5A 存在结合位点, miR-26a-5p mimic 和 WNT5A-WT 共转染组 RCF 细胞荧光素酶活性低于 mimic NC 和 WNT5A-WT 共转染组 (0.22 ± 0.04 vs 1.02 ± 0.04 , $P < 0.05$)。miR-26a-5p mimic 和 WNT5A-MUT 共转染组 RCF 细胞荧光素酶活性与 mimic NC 和 WNT5A-MUT 共转染组比



A-对照, B-模型, C-天麻素 16.665 mg·kg⁻¹, D-天麻素 66.660 mg·kg⁻¹, E-胺碘酮, F-天麻素+inhibitor NC, G-天麻素+miR-26a-5p inhibitor。

A-control, B-model, C-gastrodin 16.665 mg·kg⁻¹, D-gastrodin 66.660 mg·kg⁻¹, E-amiodarone, F-gastrodin+inhibitor NC, G-gastrodin+miR-26a-5p inhibitor.

图 3 各组心房肌组织 WNT5A 表达

Fig. 3 Expression of WNT5A in atrial muscle tissues of each group

表 5 大鼠心房肌组织 miR-26a-5p 和 WNT5A 蛋白表达水平变化 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 5 Changes of miR-26a-5p and the protein expression of WNT5A levels in rat atrial muscle tissue ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	剂量	miR-26a-5p mRNA	WNT5A/GAPDH
对照	—	1.00+0.00	0.67+0.07
模型	—	0.23+0.03*	1.78+0.16*
天麻素	16.665 mg·kg ⁻¹	0.36+0.03 [#]	1.45+0.12 [#]
	66.660 mg·kg ⁻¹	0.88+0.08 ^{#&}	0.78+0.08 ^{#&}
胺碘酮	80 mg·kg ⁻¹	0.85+0.07 ^{#&}	0.79+0.08 ^{#&}
天麻素+inhibitor NC	66.660 mg·kg ⁻¹ +50 nmol·kg ⁻¹	0.89+0.09	0.76+0.08
天麻素+miR-26a-5p inhibitor	66.660 mg·kg ⁻¹ +50 nmol·kg ⁻¹	0.51+0.06 ^{@▲}	1.23+0.11 ^{@▲}

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$; 与天麻素 16.665 mg·kg⁻¹ 组比较: [&] $P < 0.05$; 与天麻素 66.660 mg·kg⁻¹ 组比较: [@] $P < 0.05$; 与天麻素+inhibitor NC 组比较: [▲] $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group; [&] $P < 0.05$ vs gastrodin 16.665 mg·kg⁻¹ group; [@] $P < 0.05$ vs gastrodin 66.660 mg·kg⁻¹ group; [▲] $P < 0.05$ vs gastrodin+inhibitor NC group.

组均可抑制阵发性房颤大鼠心房结构重构及心房肌组织纤维化, 且 66.660 mg/kg 天麻素的抑制效果更明显。此外, 胺碘酮是常用于治疗阵发性房颤的药物, 本研究以该药为阳性药, 发现天麻素 66.660 mg/kg 组与胺碘酮组对模型大鼠心房结构重构及心房肌组织纤维化的抑制作用差异无统计学意义, 提示天麻素可能成为改善阵发性房颤的潜在有效药物之一。

4 讨论

阵发性房颤是指发作持续时间 ≤ 7 d 的心房颤动, 可反复发作, 具有进展为持续性房颤的风险, 其症状和潜在并发症可导致患者生活质量下降^[14]。本研究构建了阵发性房颤大鼠模型, 结果显示, 模型大鼠房颤诱发时间较短, 房颤持续时间延长, 且心功能指标 LVFS、LVEF 降低, 表明模型大鼠房颤易感性增强, 心功能减弱, 符合阵发性房颤病征, 造模成功。最近的研究显示, 心房结构重构是阵发性房颤发生的主要原因^[15]。评估心房结构重构的重要指标为左心房直径和左心房面积, 其中, 左心房直径可直接反映心房的横向扩张程度, 左心房面积可在一定程度上反映左心房的整体大小^[16-17]。本研究中模型组左心房直径、左心房面积高于对照组, 表明阵发性房颤大鼠存在心房结构重构。 α -SMA 和 Collagen I 是心肌纤维化进程中的 2 个关键效应分子, α -SMA 可促进成纤维细胞向具有收缩和分泌功能的肌成纤维细胞转化, 并刺激细胞外基质过度沉积; 而 Collagen I 异常积聚则可直接导致组织纤维化^[18-19]。心房结构重构会促进心房肌纤维化的发生发展^[20]。本研究中, 与对照组比较, 模型组心房肌排列紊乱无序, 且有大量呈蓝染的胶原纤维沉积, 心房肌组织 α -SMA、Collagen I 阳性表达面积升高, 表明阵发性房颤大鼠心房肌组织纤维化严重, 提示抑制心房结构重构及心房肌组织纤维化可能是改善阵发性房颤的有效途径之一。

天麻素是一种具有抗炎、抗氧化、保护心脏功能特性的天然药物。据报道, 天麻素可延缓糖尿病心肌病小鼠心肌纤维化进程^[21-22]。本研究中天麻素

组均可抑制阵发性房颤大鼠心房结构重构及心房肌组织纤维化, 且 66.660 mg/kg 天麻素的抑制效果更明显。此外, 胺碘酮是常用于治疗阵发性房颤的药物, 本研究以该药为阳性药, 发现天麻素 66.660 mg/kg 组与胺碘酮组对模型大鼠心房结构重构及心房肌组织纤维化的抑制作用差异无统计学意义, 提示天麻素可能成为改善阵发性房颤的潜在有效药物之一。

天麻素可通过调控 miRNA 表达发挥心肌保护作用^[23]。本研究通过预实验筛选发现, miR-26a-5p 在阵发性房颤大鼠心房肌组织中存在异常表达。作为一种具有重要调控功能的微小 RNA, 已有研究报道了 miR-26a-5p 的过表达可抑制心房颤动大鼠心肌纤维化^[24]。本研究中, miR-26a-5p 在模型大鼠心房肌组织中呈低表达, 天麻素组均可上调其表达, 且天麻素 66.660 mg/kg 组的上调作用更明显, 推测天麻素可能通过上调 miR-26a-5p 抑制阵发性房颤大鼠心房结构重构及心房肌组织纤维化。为验证这一推测, 本实验用 miR-26a-5p inhibitor 设置了功能恢复实验, 结果显示, miR-26a-5p inhibitor 逆转了天麻素对模型大鼠心房结构重构及心房肌组织纤维化的抑制作用, 证实了推测的合理性。

miR-26a-5p 可通过靶向调控 WNT5A 发挥心肌保护作用^[25]。WNT5A 是 WNT 蛋白家族的重要成员, 其异常表达与心肌纤维化密切相关, 如 WNT5A 的上调促进了心肌梗死后小鼠的心肌纤维化^[26]。本研究中, WNT5A 蛋白在模型大鼠心房肌组织中高表达, 天麻素下调了模型大鼠心房肌组织中 WNT5A 蛋白表达, 且天麻素 66.660 mg/kg 组的下调趋势更明显。为进一步确定天麻素抑制阵发性房

颤大鼠心房结构重构及心房肌组织纤维化的潜在分子机制,本研究通过荧光素酶活性实验证实,WNT5A 为 miR-26a-5p 的靶基因。此外,miR-26a-5p inhibitor 逆转了天麻素对阵发性房颤大鼠心房肌组织中 WNT5A 表达的抑制作用,进一步表明天麻素可能通过调控 miR-26a-5p/WNT5A 通路抑制阵发性房颤大鼠心房结构重构及心房肌组织纤维化。本研究中,天麻素+miR-26a-5p inhibitor 组房颤持续时间延长,提示 miR-26a-5p 的抑制逆转了天麻素对 WNT5A 的负调控作用,导致纤维化和电重构恶化,即 WNT5A 过表达可通过增加胶原沉积和电传导异质性促进房颤维持。

综上所述,天麻素可抑制阵发性房颤大鼠心房结构重构及心房肌组织纤维化,该机制可能与上调 miR-26a-5p 并抑制 WNT5A 表达有关。该研究可能为阵发性房颤的治疗提供新的参考依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Dong Y Z, Zhai Z Y, Wang J H, *et al.* Angiotensin receptor-neprilysin inhibitor delays progression from paroxysmal to persistent atrial fibrillation [J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 3140.
- [2] Zhao X C, Huang L, Hu J N, *et al.* The association between systemic inflammation markers and paroxysmal atrial fibrillation [J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2024, 24(1): 334.
- [3] Liu Z R, Yang Z K, Lu Y, *et al.* Short-term and long-term effects of cryoballoon ablation versus antiarrhythmic drug therapy as first-line treatment for paroxysmal atrial fibrillation: A systematic review and meta-analysis [J]. *Clin Cardiol*, 2023, 46(10): 1146-1153.
- [4] Huang T Y, Nairn D, Chen J, *et al.* Structural and electrophysiological determinants of atrial cardiomyopathy identify remodeling discrepancies between paroxysmal and persistent atrial fibrillation [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2023, 9: 1101152.
- [5] Szuromi L, Hajas O, Nagy-Baló E, *et al.* Long-term changes in the biomarkers of left atrial fibrosis after pulmonary vein isolation for paroxysmal and persistent atrial fibrillation [J]. *Rev Cardiovasc Med*, 2023, 24(6): 171.
- [6] Chen L, Lv Y, Wu H L, *et al.* Gastrodin exerts perioperative myocardial protection by improving mitophagy through the PINK1/Parkin pathway to reduce myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. *Phytomedicine*, 2024, 133: 155900.
- [7] 杨艺娜, 王蓓蓓, 金徽, 等. 天麻素的结构修饰及生物活性研究进展 [J]. *中草药*, 2024, 55(23): 8245-8255.
- [8] Zhang M, Tan Y Z, Song Y J, *et al.* GLUT4 mediates the protective function of gastrodin against pressure overload-induced cardiac hypertrophy [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 161: 114324.
- [9] 袁孝伟, 宣学习, 周芃, 等. lncRNA SNHG6 通过调节 miR-26a-5p/CTGF 轴影响心房颤动大鼠心肌纤维化的作用机制 [J]. *心血管病学进展*, 2025, 46(2): 186-192.
- [10] Tan W, Wang K, Yang X, *et al.* LncRNA HOTAIR promotes myocardial fibrosis in atrial fibrillation through binding with PTBP1 to increase the stability of Wnt5a [J]. *Int J Cardiol*, 2022, 369: 21-28.
- [11] Lu Y T, Zhang J T, Zeng F N, *et al.* Human PMSCs-derived small extracellular vesicles alleviate neuropathic pain through miR-26a-5p/Wnt5a in SNI mice model [J]. *J Neuroinflammation*, 2022, 19(1): 221.
- [12] Du R C, Guo Y, Zhong W T, *et al.* Gastrodin alleviates myocardial infarction by inhibiting inflammation, and apoptosis and promoting endothelial cell proliferation [J]. *Biochem Biophys Rep*, 2025, 42: 102014.
- [13] 刘璐, 尹玉洁, 侯云龙, 等. 通补防颤方对 Ach-CaCl₂ 诱导大鼠阵发性房颤的防治作用 [J]. *中国药理学通报*, 2023, 39(7): 1385-1392.
- [14] Paisey J, Moss J, Andrade J, *et al.* Economic evaluation of first-line cryoballoon ablation versus antiarrhythmic drug therapy for the treatment of paroxysmal atrial fibrillation from an English National Health Service perspective [J]. *Open Heart*, 2024, 11(1): e002423.
- [15] Xiao Z, Pan Y C, Kong B, *et al.* Ubiquitin-specific protease 38 promotes inflammatory atrial fibrillation induced by pressure overload [J]. *Europace*, 2023, 26(1): eua4366.
- [16] Ma S Z, Yan F, Hou Y L. Intermedin 1-53 ameliorates atrial fibrosis and reduces inducibility of atrial fibrillation via TGF- β 1/pSmad3 and Nox4 pathway in a rat model of heart failure [J]. *J Clin Med*, 2023, 12(4): 1537.
- [17] Wei H Q, Luo Y, Wei C, *et al.* Cardiac structural and functional changes in OSAHS patients with heart failure with preserved ejection fraction and atrial fibrillation [J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2024, 24(1): 562.
- [18] Sharma M, Sarode S C, Sarode G, *et al.* Areca nut-induced oral fibrosis-reassessing the biology of oral submucous fibrosis [J]. *J Oral Biosci*, 2024, 66(2): 320-328.
- [19] Yun W J, Qian L, Yuan R Q, *et al.* Periplocymarin protects against myocardial fibrosis induced by β -adrenergic activation in mice [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 139: 111562.
- [20] Yamaguchi T. Atrial structural remodeling and atrial fibrillation substrate: A histopathological perspective [J]. *J*

- Cardiol*, 2025, 85(2): 47-55.
- [21] Dong Z W, Yang L, Jiao J L, *et al.* Aspirin in combination with gastrodin protects cardiac function and mitigates gastric mucosal injury in response to myocardial ischemia/reperfusion [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 27: 995102.
- [22] Zhang M S, Zhang Y F, He J G, *et al.* Gastrodin attenuates diabetic cardiomyopathy characterized by myocardial fibrosis by inhibiting the KLK8-PAR1 signaling axis [J]. *Chin Med*, 2024, 19(1): 164.
- [23] Xing Y, Li L. Gastrodin protects rat cardiomyocytes H9c2 from hypoxia-induced injury by up-regulation of microRNA-21 [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2019, 109: 8-16.
- [24] Li K, Sun H X, Bo Y K, *et al.* MCP1 promotes atrial remodeling by exacerbating miR-26a-5p/FRAT/Wnt axis-mediated atrial fibrosis in a rat model susceptible to atrial fibrillation [J]. *FASEB J*, 2024, 38(18): e70068.
- [25] Yan G H, Wang J J, Fang Z X, *et al.* MiR-26a-5p targets WNT5A to protect cardiomyocytes from injury due to hypoxia/reoxygenation through the Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *Int Heart J*, 2021, 62(5): 1145-1152.
- [26] Bai W W, Tang Z Y, Shan T C, *et al.* Up-regulation of paired-related homeobox 2 promotes cardiac fibrosis in mice following myocardial infarction by targeting of Wnt5a [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(3): 2319-2329.

【责任编辑 高源】