

强心汤调控 p32/OMA1/OPA1 通路维持线粒体功能改善慢性心力衰竭小鼠心肌损伤和纤维化

毛美玲¹, 卢健棋^{2*}, 潘朝铨², 朱智德², 卢俊燊³, 卢洁², 谢丽钰¹, 陈佳永¹, 肖湘¹

1. 广西中医药大学 第一临床医学院, 广西 南宁 530000

2. 广西中医药大学第一附属医院, 广西 南宁 530023

3. 广西中医药大学附设中医学校, 广西 南宁 530000

摘要: **目的** 探讨强心汤调控 p32/OMA1/OPA1 通路介导的线粒体功能防治慢性心力衰竭纤维化的作用机制。**方法** 除 7 只对照组小鼠外, 余 33 只小鼠通过结扎冠状动脉建立慢性心力衰竭小鼠模型, 并将存活的 28 只小鼠随机分为模型组、沙库巴曲缬沙坦(阳性药, 15.17 mg·kg⁻¹)组及强心汤低、高剂量(21.69、43.38 g·kg⁻¹)组, 每组 7 只, 对照组、模型组给予等量纯净水, 造模后每天 ig 给药 1 次, 连续 4 周。进行苏木素-伊红(HE)、Masson 染色观察各组小鼠心肌组织病理损伤和纤维化情况; 透射电镜观察线粒体损伤情况; 免疫组化法和 Western blotting 法检测心脏组织中补体成分 1q 结合蛋白(p32)、线粒体内膜蛋白 1(OMA1)、视神经萎缩蛋白 1(OPA1)的表达情况; 生化检测法测定各组小鼠血清中三磷酸腺苷(ATP)含量。**结果** 与对照组比较, 模型组小鼠心肌组织损伤严重、心肌纤维化, 线粒体碎裂、嵴消失; p32、长链 OPA1(L-OPA1)蛋白表达显著降低($P<0.01$), OMA1、短链 OPA1(S-OPA1)蛋白表达显著升高($P<0.01$), 血清 ATP 浓度水平显著降低($P<0.01$)。与模型组比较, 强心汤高剂量组小鼠心肌组织整齐、纤维化明显改善, p32、L-OPA1 蛋白表达显著增加($P<0.01$), OMA1、S-OPA1 蛋白表达显著降低($P<0.01$), 血清 ATP 含量明显增加($P<0.01$)。**结论** 强心汤能够积极调控 p32/OMA1/OPA1 通路发挥维持线粒体供能、减轻慢性心力衰竭模型小鼠心肌损伤和组织纤维化的作用。

关键词: 强心汤; 慢性心力衰竭; p32/OMA1/OPA1; 线粒体; 心肌损伤; 纤维化

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2025)01-0051-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.01.005

Qiangxin Decoction regulates p32/OMA1/OPA1 pathway to maintain mitochondrial function and improve myocardial injury and fibrosis in mice with chronic heart failure

MAO Meiling¹, LU Jianqi², PAN Chaoxin², ZHU Zhide², LU Junshen³, LU Jie², XIE Liyu¹, CHEN Jiayong¹, XIAO Xiang¹

1. First School of Clinical Medicine, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530000, China

2. The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, China

3. Guangxi University of Traditional Chinese Medicine Affiliated Traditional Chinese Medicine School, Nanning 530000, China

Abstract: Objective To investigate the mechanism of effects of Qiangxin Decoction in modulating p32/OMA1/OPA1 pathway-mediated mitochondrial function against fibrosis in heart failure. **Methods** Except for seven mice in the control group, the remaining 33 mice established a mouse model of chronic heart failure by ligating the coronary artery, and the 28 surviving mice were randomly divided into model group, Qiangxin Decoction low and high dose (21.69 and 43.38 g·kg⁻¹) group, and sacubitril valsartan (positive drug, 15.17 mg·kg⁻¹) group, with seven mice in each group. After modeling, the mice in each group were treated with ig drugs once a day for four consecutive weeks, in control group and model group were given by equal volume of pure water. HE and Masson staining

收稿日期: 2024-07-17

基金项目: 国家自然科学基金地区基金(82160887); 广西自然科学基金项目(2021GXNSFAA220111); 广西岐黄学者培养项目(NO.2022015-003-02); 国家中医药传承创新中心项目(2023019-10); 广西中医药大学研究生教育创新计划项目(YCBXJ2023024)

作者简介: 毛美玲(1994—), 女, 在读博士生, 主要从事中医药防治心血管疾病研究。E-mail: 897400114@qq.com

*通信作者: 卢健棋(1963—), 男, 主任医师, 博士生导师, 主要从事中医药防治心血管疾病研究。E-mail: lujianqi666@163.com

were performed to observe the pathological injury and fibrosis of myocardial tissue in each group. The mitochondrial damage was observed by transmission electron microscope. The expression of p32, OMA1 and OPA1 proteins in cardiac tissues was detected by immunohistochemistry and Western blotting. The content of ATP in serum was determined by biochemical detection. **Results** Compared with the control group, the model group exhibited severe myocardial damage, fibrosis, mitochondrial fragmentation, and cristae loss, protein expression of p32 and L-OPA1 was reduced ($P < 0.01$), while that of OMA1 and S-OPA1 was elevated ($P < 0.01$), and serum ATP concentration was significantly lower ($P < 0.01$). In comparison to the model group, the myocardial tissue of mice in Qiangxin Decoction high dose groups was well-organized, with significant improvement in fibrosis, protein expression of p32 and L-OPA1 increased ($P < 0.01$), while that of OMA1 and S-OPA1 decreased ($P < 0.01$), and serum ATP levels were significantly elevated ($P < 0.01$). **Conclusion** Qiangxin Decoction can actively regulate the p32/OMA1/OPA1 pathway, thereby playing a role in maintaining mitochondrial energy supply, and reducing myocardial injury and tissue fibrosis in CHF model mice.

Key words: Qiangxin Decoction; chronic heart failure; p32/OMA1/OPA1; mitochondria; myocardial injury; fibrosis

慢性心力衰竭 (CHF) 是各种心血管疾病的终末阶段, 逐渐形成发病人群年轻化的态势, 尤其以青年男性居多, 发病率、再住院率和院内死亡率均较高, 人群预后差, 同时老年人发病率依然呈上升趋势^[1-2]。目前普遍认为 CHF 病机与心肌细胞凋亡、自噬、炎症反应、线粒体重塑、基因转录调控和能量代谢等有关, 其中线粒体功能障碍与 CHF 的发生密切相关, 然而其潜在机制尚不清楚。一项对 1 000 例心衰患者进行全外显子组测序和对 2 324 例心衰患者进行基因分型的研究发现^[3], 线粒体内膜蛋白 1 (OMA1) 能够增强视神经萎缩蛋白 1 (OPA1) 表达而增加心力衰竭患者死亡风险; 与对照组相比, CHF 样本中短链 OPA1 (S-OPA1) 与长链 OPA1 (L-OPA1) 比值增加, 表明 OMA1 介导 OPA1 水平变化可能在 CHF 的恶化中发挥重要作用。另有研究表明补体成分 1q 结合蛋白 (p32, 别称 C1qbp) 缺陷的心脏, 线粒体氧化磷酸化 (OXPHOS) 降低, 也增加了 S-OPA1 变异水平, 可能导致线粒体形态异常^[4]。心脏泵血活动的维持需要线粒体功能和形态的完整性, 这是产生三磷酸腺苷 (ATP) 的核心代谢途径, 以确保不间断的能量供应, 而线粒体代谢功能障碍, 被认为是 CHF 发生的主要原因^[5-7]。本团队前期研究表明^[8], 强心汤治疗 CHF 存在多靶点、多通路的优势, 与规范化治疗合用或与八段锦联合能够有效提高 CHF 患者生存质量、生活质量和心功能等, 已广泛应用于临床^[9-11]。本研究拟探索强心汤是否通过调控 p32/OMA1/OPA1 通路增强线粒体功能进而改善 CHF 小鼠心肌病理损伤和阻碍心肌纤维化。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 C57BL/J 小鼠 40 只, 体质量 (20±

2) g, 购自辽宁长生生物科技股份有限公司, 实验动物生产许可证号 SCXK (辽) 2020-0001。于广西中医药大学科学实验中心饲养, 饲养条件: 温度 (25±2) °C、湿度 (50±10) %, 12 h 明暗交替, 普通饲料喂养。本研究经广西中医药大学动物伦理委员会批准通过, 伦理批准号: DW20221213-228。

1.2 药物及主要试剂

强心汤组成: 黄芪 30 g, 党参 15 g, 熟附子 10 g (先煎), 桂枝、川芎、丹参、葶苈子、茯苓、白术各 10 g, 柏子仁 12 g (打), 玉竹 10 g, 炙甘草 6 g, 由广西中医药大学第一附属医院提供, 经该院中医经典科韩景波主任鉴定分别为膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根、桔梗科植物党参 *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf. 的干燥根、毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaeli* Debx. 的子根、樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl. 的干燥嫩枝、伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的根茎、唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根和根茎、十字花科植物播娘蒿 *Descurainia sophia* 的干燥成熟种子、多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核、菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的干燥根茎、柏科植物侧柏 *Platycladus orientalis* (L.) Franco 的干燥成熟种仁、百合科植物玉竹 *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce 的干燥根茎、豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎。沙库巴曲缬沙坦 (SV) 片, 北京诺华制药有限公司, 批号 090502, 每片 100 mg。

Mayer 苏木素染液 (货号 BT-P107)、伊红染液 (货号 BT-P109)、Tris-EDTA 修复液 (0.01 mol·L⁻¹, pH 9.0, 货号 BT-P303) 均购自旗赛生物科技 (武

汉)有限公司; Masson 试剂盒(武汉博尔夫生物科技有限公司, 货号 BH0002); 戊二醛(alfa Aesar 公司, 货号 A17876); 硝酸铅(SPI-CHEN 公司, 货号 10088-74-8); 正常山羊血清(浓缩型, BOSTER 公司, 货号 AR1009); 免疫显色试剂盒(Dako 公司, 货号 K5007); 小鼠单抗 β -actin(Affinity 公司, 货号 T0022); 兔单抗 p32(Abcam 公司, 货号 Ab270032); 兔多抗 OMA1(货号 17116-1-AP)、兔多抗 OPA1(货号 27733-1-AP)、HRP 标记羊抗小鼠二抗(货号 SA00001-1)均购自武汉三鹰生物技术有限公司; HRP 标记羊抗兔二抗(碧云天生物技术有限公司, 货号 A0208); 蛋白 Marker(Yeasen 公司, 货号 20350ES90); ATP 含量测试试剂盒(北京索莱宝科技有限公司, 货号 BC0305)。

1.3 仪器

DW-3000c 小动物呼吸机(北京众实迪创科技发展有限公司); FLEXACAMC1 显微镜、RM 2016 生物组织石蜡切片机(Leica 公司); Tecnai G20 TWIN 透射电镜(美国 FEI 公司); BC003 免疫组化用油性笔(biosharp 公司); WIX-easyPRO4 垂直电泳槽(韦克斯公司); DYCZ-40 电转仪(北京六一仪器厂); FW606 半干转印仪(南京艾恩易公司), FlexStation 3 多功能酶标仪(美国 Molecular Devices 公司)。

2 方法

2.1 分组、造模、药物制备与给药干预

动物适应性喂养 1 周后, 随机选取 7 只作为对照组, 余 33 只小鼠参照文献报道^[12]方法建立 CHF 小鼠模型, 将术后存活的 28 只小鼠按随机数字表法分为模型组、SV(阳性药, $15.17 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)组及强心汤低、高剂量(21.69 、 $43.38 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)组, 每组 7 只。造模小鼠用 2%异氟烷经口鼻麻醉后, 将其仰卧固定于手术台上, 小鼠痛觉消失后, 接上呼吸机获得稳定支持; 用脱毛膏祛除小鼠胸部毛发后消毒, 用蚊式镊穿过第 3、4 肋间, 快速挤出心脏, 用带线缝合针迅速结扎冠状动脉左前降支后关胸缝合, 以心室壁变为苍白、心电图监测提示 ST 段抬高为造模成功的标准, 观察小鼠状态平稳后撤掉呼吸机和麻醉, 置于有干净垫料的鼠笼中保温待其苏醒。

按照《实验动物学》的动物和人体间的等效剂量换算公式^[13]分别制备强心汤低、高剂量中药, 按药材-纯净水 1:10 比例, 先煎熟附子 1 h 后再同其

他药材共煎煮, 并浓缩至 1.08 、 $2.17 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 通过 HPLC 法检测, 黄芪甲苷、党参炔苷、乌头碱、丹参酮、川芎嗪质量分数分别为 0.037%、0.02%、0.01%、0.004%、0.038%。用 0.9%氯化钠溶液溶解制备 SV 混悬液 $0.76 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 于 4 °C 冰箱保存。建立 CHF 模型第 2 天开始 ig 给药, 使用前用 37 °C 水浴加热药物, 各组小鼠按 $1 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 等量 ig 给药, 对照组、模型组给予等体积纯净水, 每天 1 次, 连续 28 d。

2.2 标本采集

将每组 7 只小鼠 ip 0.5%戊巴比妥钠($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)麻醉, 摘除眼球取血保存用以生化检测; 继续取出心脏并分离出心室组织。每组取 3 只小鼠心室组织存于冻存管, 用于 Western blotting 法检测; 每组取 1 只小鼠心室组织固定于戊二醛中, 用于透射电镜观察; 每组取 3 只小鼠心室组织固定于 4%多聚甲醛中, 用于苏木精-伊红(HE)、Masson 染色和免疫组化检测。

2.3 检测指标

2.3.1 HE 染色和 Masson 染色 观察各组大鼠心肌病理损伤情况 将多聚甲醛中的心室组织取出, 经梯度酒精脱水后石蜡包埋, 切片。经苏木素染色、盐酸酒精分化、伊红染色、脱水封片等流程处理后, 在光学显微镜下镜检, 采集图像并分析。将切片用组化笔画圈后放在湿盒中, 滴加重铬酸钾染液, 覆盖组织过夜后次日水洗(3 次、每次 3 min), 滴加 Weigert 铁苏木素染液染核 5 min, 再依次用丽春红酸性品红、1%磷钼酸水溶液、苯胺蓝染液、1%冰醋酸处理, 脱水透明封片后镜检。

2.3.2 透射电镜观察 各组大鼠心肌组织线粒体损伤情况 取固定的心肌组织用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液(pH 7.4)漂洗后, 用 1%钨酸、 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液(pH 7.4)固定 2 h (20 °C), 依次进行梯度酒精脱水、渗透过夜、60 °C 聚合 48 h、超薄切片、铀铅双染色(2%醋酸铀饱和水溶液、枸橼酸铅各染色 15 min), 切片室温干燥过夜后电镜观察。

2.3.3 免疫组化法检测 p32/C1qbp、OMA1、OPA1 蛋白的表达 将准备好的切片加适量修复液进行抗原修复, 滴加 3%过氧化氢用以阻断内源性过氧化物酶, 室温孵育 15 min; 免疫组化笔画圈滴加稀释好的山羊血清, 室温封闭 30 min; 甩去多余液体后分别滴加稀释好的 p32、OMA1、OPA1 蛋白一抗(稀释比分别为 1:200、1:100、1:200),

4 ℃冰箱孵育过夜；滴加 HRP 标记的二抗，37 ℃孵育 30 min；加 DAB 显色液后，苏木素复染，脱水、封片、镜检。

2.3.4 Western blotting 法检测 p32、OMA1、OPA1 蛋白表达 取冻存管中心室组织，提取总蛋白，用 BCA 法测定蛋白浓度，按上样量加入各组待测样品，经电泳、电转至 PVDF 膜后分别加入 β -actin、p32/C1qbp、OMA1、OPA1 一抗（稀释比分别为 1：5 000、1：1 000、1：2 000、1：2 000）4 ℃孵育过夜，加入相应二抗（稀释比为 1：10 000）孵育 2 h，加入发光液后于成像系统显影成像，用 Image-Pro-Plus 分析胶片灰度值。

2.3.5 生化检测各组小鼠血清中 ATP 浓度 提取血清中 ATP 后按试剂二-试剂三-试剂四-试剂五-试剂六 1.0：1.0：0.1：0.4：0.1 的比例配制工作液，继续按照试剂盒说明完成检测步骤，于波长 340 nm 条件下测定吸光度（A）值，并根据公式计算得出 ATP 浓度。

2.4 统计分析

采用 SPSS 26.0 和 GraphPad Prism 8.0 软件进

行统计分析，符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 描述，多组间数据分析比较采用单因素方差分析（One-way ANOVA）。数据经正态性及方差齐性检验，符合正态分布且方差齐，两两比较采用 LSD 法。

3 结果

3.1 各组小鼠心肌组织病理损伤情况比较

结果如图 1、2 所示，对照组小鼠未见病理损伤改变，膜组织结构完整，胞核染色正常，心肌组织整齐有序，未见有胶原纤维和黏液沉积。模型组小鼠心肌组织损伤明显，各层膜组织结构异常改变，横纹肌模糊，心肌细胞排列紊乱且有变性坏死，可见蓝色的胶原纤维和黏液沉积，呈纤维化。强心汤低、高剂量组和 SV 组病理损伤情况改善，心内膜、中膜、外膜结构清楚，横纹肌清晰可见，心肌细胞排列紊乱、纤维化情况得到改善。

3.2 各组小鼠心肌组织线粒体损伤情况比较

如图 3 所示，对照组小鼠心肌组织排列整齐，肌丝排列精细致密，明暗带结构清楚，线粒体正常未见损伤。模型组小鼠心肌组织肌丝疏松且伴有断裂，明暗带结构不清，可见线粒体肿大、碎片化、

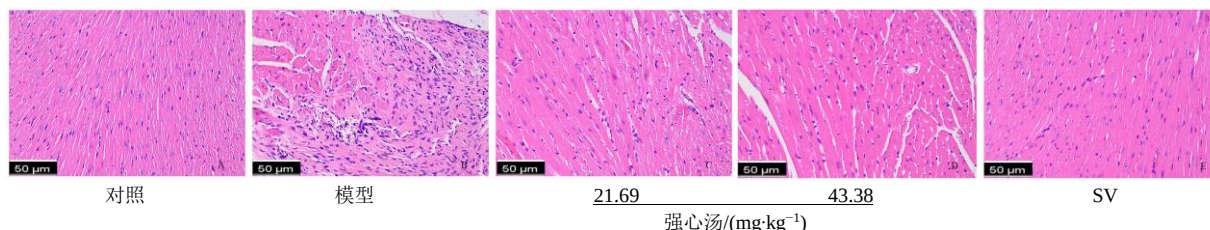


图 1 各组小鼠心肌组织形态比较（HE 染色，×200）

Fig. 1 Comparison of myocardial tissue morphology among different groups of mice (HE staining, ×200)

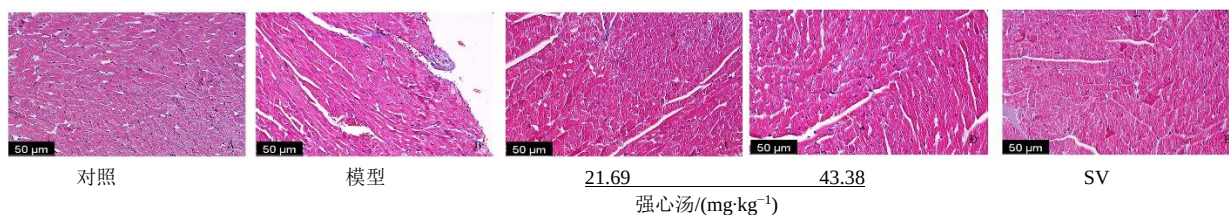


图 2 各组小鼠心肌组织纤维化结果比较（Masson 染色，×200）

Fig. 2 Comparison of myocardial tissue fibrosis results among different groups of mice (Masson staining, ×200)

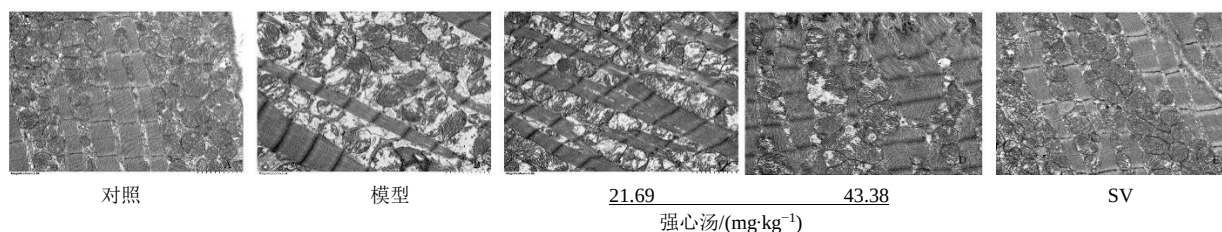


图 3 各组小鼠心肌组织透射电镜结果（×5 000）

Fig. 3 Transmission electron microscopy results of myocardial tissue in each group of mice (×5 000)

空泡化且数量明显减少, 线粒体嵴大部分消失伴膜破裂。强心汤低、高剂量组和 SV 组线粒体损伤情况得到明显改善, 线粒体数量增多且体积大小较为统一, 线粒体内无明显空泡化、碎片化, 肌丝排列较为精细致密, 整体形态接近对照组。

3.3 各组小鼠心肌组织中 p32、OMA1、OPA1 蛋白免疫组化结果比较

如图 4、5 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠心肌组织中 p32、OPA1 蛋白表达显著降低, OMA1 蛋白表达显著升高 ($P<0.01$)。与模型组比较, 强心汤低剂量组 p32、OPA1 蛋白表达显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01), 强心汤高剂量组、SV 组 p32、OPA1 蛋白表达显著升高, OMA1 蛋白表达显著降低 ($P<0.01$)。

3.4 各组小鼠心肌组织 p32/C1qbp、OMA1、L-OPA1、S-OPA1 蛋白表达水平

如图 6 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠心肌组织 p32、L-OPA1 蛋白表达显著降低, OMA1、S-OPA1 蛋白表达显著升高 ($P<0.01$)。与模型组比较, 强心汤低剂量组 p32、L-OPA1 蛋白表达显著

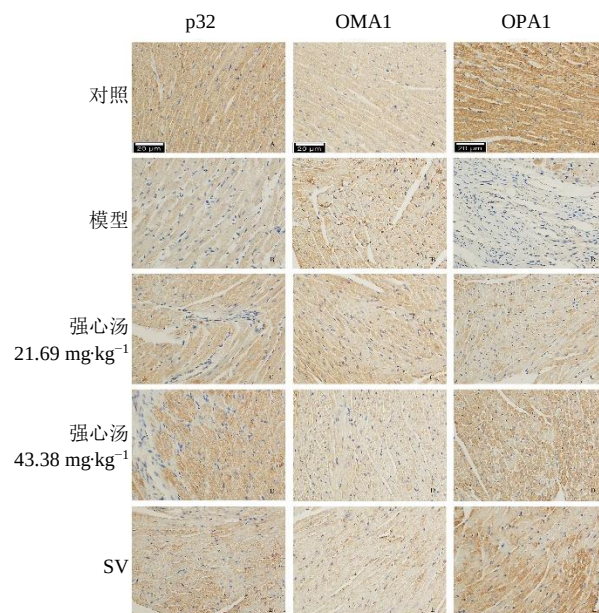
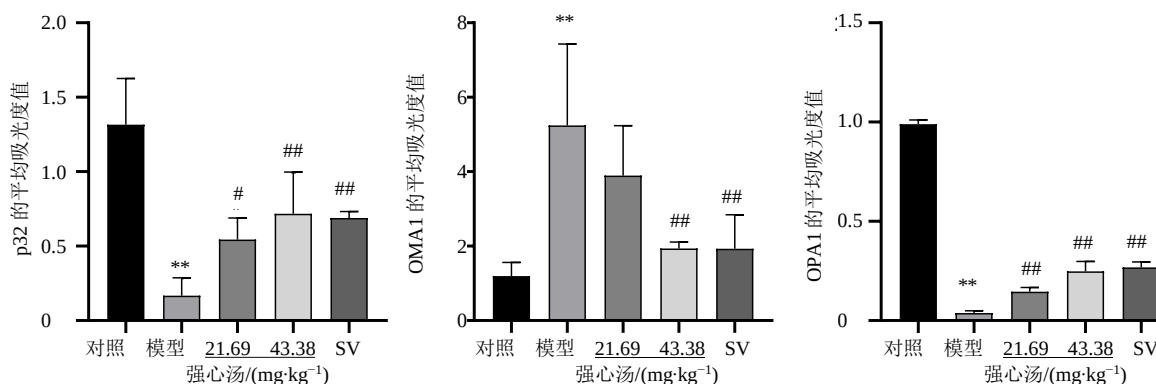


图 4 各组小鼠心肌组织 p32、OMA1、OPA1 免疫组化代表图 ($\times 400$)

Fig. 4 Representative immunohistochemical images of p32, OMA1, and OPA1 in myocardial tissue of mice across different groups ($\times 400$)



与对照组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: # $P<0.05$ ## $P<0.01$ 。

** $P<0.01$ vs control group; # $P<0.05$ ## $P<0.01$ vs model group.

图 5 各组小鼠心肌组织 p32、OMA1、OPA1 免疫组化比较结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 5 Immunohistochemical comparison of p32, OMA1, and OPA1 in myocardial tissue of mice across different groups ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

升高 ($P<0.01$), S-OPA1 蛋白表达显著降低 ($P<0.05$), OMA1 蛋白表达降低但无统计学意义 ($P>0.05$); 强心汤高剂量组、SV 组 p32、L-OPA1 蛋白表达显著升高 ($P<0.01$), OMA1、S-OPA1 蛋白表达显著降低 ($P<0.01$)。

3.5 各组小鼠血清中 ATP 浓度水平

如图 7 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠血清 ATP 浓度明显降低 ($P<0.01$); 与模型组比较,

强心汤高剂量组和 SV 组小鼠 ATP 浓度显著升高 ($P<0.01$)。

4 讨论

心力衰竭发生线粒体结构损伤和功能障碍, 包括线粒体氧化损伤增加、线粒体呼吸障碍和线粒体底物使用异常。线粒体通过 OXPHOS 提供能量, 维持机体正常生理功能^[14]。线粒体功能障碍参与心血管疾病 (CVD) 多种病理进程^[15-16], 线粒体在 CVD

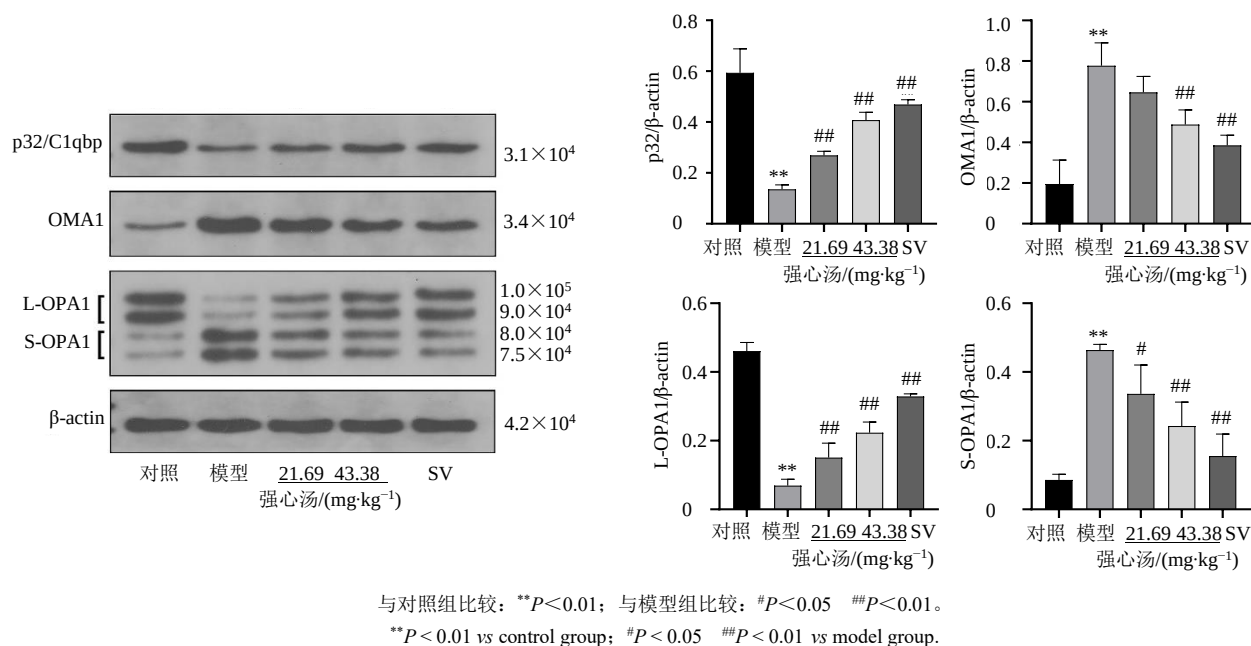


图 6 各组小鼠心肌组织 p32、OMA1、L-OPA1、S-OPA1 蛋白相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)
 Fig. 6 Comparison of relative expression levels of p32, OMA1, L-OPA1, and S-OPA1 proteins in myocardial tissue of mice in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

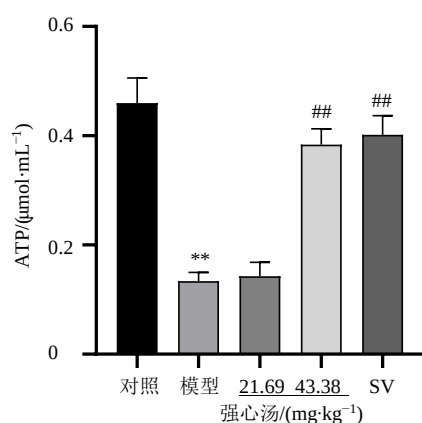


图 7 各组小鼠血清中 ATP 浓度比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)
 Fig. 7 Comparison of ATP concentration levels in serum of different groups of mice ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

的发病机制中起着重要作用。线粒体动力学和线粒体吞噬是在生理环境中维持心肌细胞功能的基本机制。然而,随着 CVD 的发生和发展,自噬的稳态受到很大程度上未知刺激的干扰,导致线粒体损伤,最终导致心肌细胞死亡^[17]。Svagusa 等^[18]从心衰终末期的缺血性和扩张性心肌病患者以及无心脏疾病的供体中获取心肌样本分析得出,缺血性扩张性心肌病患者心力衰竭与大量线粒体未折叠蛋

白反应 (UPRmt)、线粒体吞噬、内膜转位酶 (TIM) 和融合-裂变平衡基因下调有关,这表明线粒体质量控制 (MQC) 存在多种缺陷是心力衰竭患者线粒体功能障碍的潜在机制之一。

线粒体内膜形成高度组织内陷,称为嵴,包围 OXPHOS 系统的组成部分。嵴结构决定呼吸链的组织的功能及其代谢状态,并受内膜蛋白酶 OMA1 的调控。沉默 OMA1 可保留嵴,防止线粒体功能障碍,并保护心肌细胞不凋亡,对心力衰竭小鼠有保护作用^[19-20]。OMA1 的主要靶标 OPA1 轻度过表达可以保护心脏和大脑缺血^[21]。OMA1 在应激反应中被激活,并介导 OPA1 的蛋白水解过程,OPA1 是一种调节嵴形成和维持、线粒体融合和 ATP 产生的蛋白,OPA1 下调或 OMA1 激活会刺激线粒体破碎,扰乱嵴形态^[22-24]。OMA1 可调控 OPA1 依赖的线粒体融合,OMA1 的缺失能够抑制线粒体碎片化^[25-26]。线粒体蛋白酶 OMA1 的消融可以避免心力衰竭模型小鼠心肌细胞的死亡,因此 OMA1 的缺失在心肌细胞保护中起着直接作用^[19]。OPA1 在心脏线粒体中有 5 种亚型,包括 2 种 L-OPA1 亚型和 3 种 S-OPA1 亚型^[27],OPA1 下调导致心肌细胞呼吸体解体,L-OPA1 已被证明通过稳定嵴形来保护线粒体免受呼吸链抑制^[28]。在高水平 Ca^{2+} 和活性氧条件下,线粒体膜通透性转换孔 (mPTP) 打开,然后观

察到线粒体过度肿胀, 导致心肌线粒体中 L-OPA1 蛋白水解^[29]。OPA1 作为 OMA1 的主要底物, 已被鉴定为线粒体功能的主要调节因子; L-OPA1 可介导线粒体融合, S-OPA1 可促进线粒体裂变^[30-32]。维持每种形式 OPA1 的相对数量是稳定线粒体嵴的必要条件^[33]。过表达 OPA1 可降低细胞死亡, 而敲低 OPA1 可增加细胞凋亡的易感性^[34-36]。此外, 在慢性压力过载条件下, OPA1 对线粒体形态和心脏功能都是不可或缺的, 这在 OPA1 敲低和过表达的小鼠模型中得到了证实^[21, 37]。

L-OPA1 介导的线粒体融合保留了心脏功能, 而其由 OMA1 和线粒体碎片介导的应激诱导的处理会引发扩张型心肌病和心力衰竭。通过敲除 OMA1 来防止线粒体断裂可以防止细胞死亡和心力衰竭^[31]。OMA1 作为线粒体形态和心肌细胞存活的关键调节因子的鉴定为心血管医学的转化应用提供了前景。尽管线粒体断裂, 但逆转这种转变并恢复正常的心脏代谢足以保持心脏功能。p32 主要定位于线粒体中, p32 基因缺乏可导致线粒体结构破坏和失稳态, L-OPA1 水平下降, S-OPA1/OPA1 水平增加, 由于长时间的 OPA1 独立于线粒体融合控制嵴重构, 累积的线粒体嵴丢失和嵴结构紊乱可能是由于 p32 缺陷导致线粒体中 S-OPA1 的增加, 最终引起成人心功能不全。通过电子显微镜, p32 缺失的心脏显示线粒体排列更不有序, 更多聚集和大小变化, 基质密度损失, 线粒体内部结构似乎被破坏^[4]。

线粒体通过 OXPHOS 产生 ATP 合成所需的能量, 其能量代谢也是氧化剂的主要来源, 在心脏氧化还原信号转导和氧化应激中起着独特的作用。心肌细胞需要 ATP 合成和氧消耗, 线粒体通过调节生物能、氧化还原信号、氧化应激、钙处理、收缩特性、坏死和凋亡等机制, 对心肌细胞的生理有直接和间接的影响^[38]。因此, 维持心脏线粒体功能和完整性对人类健康至关重要。线粒体除了在 ATP 合成和氧化还原稳态中发挥核心作用外, 还参与脂肪酸和氨基酸的氧化, 维持代谢产物、辅助因子和离子稳态, 以及亚铁血红素和硫铁团簇的合成, 因此在细胞内众多成分中, 线粒体被认为是一个具有独特生化、形态和空间特征的动态性影响因素^[39-41]。人和小鼠心力衰竭心肌线粒体融合减少, 裂变增加, 线粒体小而破碎^[19, 42], 而通过靶向相关蛋白恢复平衡可以改善心功能^[43]。

卢健棋教授认为心衰之为病, 必先损其心气, 渐及心阴、心阳。对心力衰竭进行药物干预时, 心气是心阴、心阳之根, 心气耗损是导致心阴、心阳失调的根源, 通过补益心气, 恢复心的生理机能, 使心阴、心阳得以自和与平衡, 故以益气活血为治疗心衰的基本大法, 偏阳虚则辅以温阳, 偏阴虚则佐以养阴, 合并水饮、痰浊则利水化痰, 强心汤全方以益气温阳、活血利水之功效治疗 CHF 获效颇丰^[44]。本研究发现 CHF 模型小鼠心肌组织损伤严重、心肌纤维化, p32/OMA1/OPA1 轴明显受到影响, 线粒体碎裂、嵴消失, 进而线粒体功能障碍, ATP 含量减少。给予强心汤治疗后心肌组织排列整齐、纤维化明显减轻, 对维持线粒体结构和稳态有重要作用的 p32、L-OPA1 蛋白表达增加, 而对促进线粒体破坏作用的 OMA1、S-OPA1 蛋白表达降低, 同时生化检测结果也表明 ATP 含量明显增加。综上, 强心汤能够积极调控 p32/OMA1/OPA1 通路发挥线粒体维持供能、减轻 CHF 模型小鼠心肌损伤和组织纤维化的作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Crea F. Epidemiology and treatment of acute and chronic heart failure [J]. Eur Heart J, 2023, 44(5): 329-332.
- [2] Rossignol P, Hernandez A F, Solomon S D, et al. Heart failure drug treatment [J]. Lancet, 2019, 393(10175): 1034-1044.
- [3] Hu D, Li S Y, Hu S L, et al. A common missense variant in OMA1 associated with the prognosis of heart failure [J]. Cardiovasc Drugs Ther, 2020, 34(3): 345-356.
- [4] Saito T, Uchiumi T, Yagi M, et al. Cardiomyocyte-specific loss of mitochondrial p32/C1qbp causes cardiomyopathy and activates stress responses [J]. Cardiovasc Res, 2017, 113(10): 1173-1185.
- [5] Brown D A, Perry J B, Allen M E, et al. Expert consensus document: Mitochondrial function as a therapeutic target in heart failure [J]. Nat Rev Cardiol, 2017, 14(4): 238-250.
- [6] Okonko D O, Shah A M. Heart failure: Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in CHF [J]. Nat Rev Cardiol, 2015, 12(1): 6-8.
- [7] Bertero E, Maack C. Metabolic remodelling in heart failure [J]. Nat Rev Cardiol, 2018, 15(8): 457-470.
- [8] 毛美玲, 卢健棋, 谢丽钰, 等. 基于网络药理学、分子对接探讨强心汤治疗慢性心力衰竭的潜在作用机制 [J]. 中医杂志, 2023, 64(20): 2132-2137.

- Mao M L, Lu J Q, Xie L Y, et al. Potential mechanism of action of Qiangxin Decoction(强心汤)for chronic heart failure based on network pharmacology and molecular docking [J]. J Tradit Chin Med, 2023, 64(20): 2132-2137.
- [9] 温志浩, 卢健棋, 潘朝铎, 等. 强心汤对慢性心衰患者生存质量影响的研究 [J]. 世界中西医结合杂志, 2015, 10(2): 204-206.
- Wen Z H, Lu J Q, Pan C X, et al. Research on the influence of Qiangxin Decoction on life quality of patients with chronic heart failure [J]. World J Integr Tradit West Med, 2015, 10(2): 204-206.
- [10] 温志浩, 卢健棋, 潘朝铎, 等. 强心汤对慢性心衰患者运动耐量影响的研究 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2014, 12(11): 1291-1293.
- Wen Z H, Lu J Q, Pan C X, et al. Effects of Qiangxin Decoction on Exercise Tolerance in Patients with Chronic Heart Failure [J]. Chin J Integr Med Cardio Cerebrovasc Dis, 2014, 12(11): 1291-1293.
- [11] 庞延, 林浩, 卢健棋, 等. 强心汤联合八段锦治疗老年慢性心力衰竭伴衰弱患者的临床疗效 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(4): 104-109.
- Pang Y, Lin H, Lu J Q, et al. Clinical efficacy of Qiangxin Decoction combined with Baduanjin in treatment of elderly patients with chronic heart failure and weakness [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2023, 29(4): 104-109.
- [12] Curaj A, Simsekylmaz S, Staudt M, et al. Minimal invasive surgical procedure of inducing myocardial infarction in mice [J]. J Vis Exp, 2015(99): e52197.
- [13] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9(9): 1069-1072.
- Huang J H, Huang X H, Chen Z Y, et al. Dose conversion among different animals and healthy volunteers in pharmacological study [J]. Chin J Clin Pharmacol Ther, 2004, 9(9): 1069-1072.
- [14] Knowlton A A, Liu T T. Mitochondrial dynamics and heart failure [J]. Compr Physiol, 2015, 6(1): 507-526.
- [15] Vázquez-Trincado C, García-Carvajal I, Pennanen C, et al. Mitochondrial dynamics, mitophagy and cardiovascular disease [J]. J Physiol, 2016, 594(3): 509-525.
- [16] Hall A R, Burke N, Dongworth R K, et al. Mitochondrial fusion and fission proteins: Novel therapeutic targets for combating cardiovascular disease [J]. Br J Pharmacol, 2014, 171(8): 1890-1906.
- [17] Ajoolabady A, Chiong M, Lavandero S, et al. Mitophagy in cardiovascular diseases: Molecular mechanisms, pathogenesis, and treatment [J]. Trends Mol Med, 2022, 28(10): 836-849.
- [18] Svagusa T, Sikiric S, Milavic M, et al. Heart failure in patients is associated with downregulation of mitochondrial quality control genes [J]. Eur J Clin Invest, 2023, 53(11): e14054.
- [19] Acin-Perez R, Lechuga-Vieco A V, Del Mar Muñoz M, et al. Ablation of the stress protease OMA1 protects against heart failure in mice [J]. Sci Transl Med, 2018, 10(434): eaan4935.
- [20] MacVicar T D B, Lane J D. Impaired OMA1-dependent cleavage of OPA1 and reduced DRP1 fission activity combine to prevent mitophagy in cells that are dependent on oxidative phosphorylation [J]. J Cell Sci, 2014, 127(Pt 10): 2313-2325.
- [21] Civileto G, Varanita T, Cerutti R, et al. Opa1 overexpression ameliorates the phenotype of two mitochondrial disease mouse models [J]. Cell Metab, 2015, 21(6): 845-854.
- [22] Quirós P M, Ramsay A J, Sala D, et al. Loss of mitochondrial protease OMA1 alters processing of the GTPase OPA1 and causes obesity and defective thermogenesis in mice [J]. EMBO J, 2012, 31(9): 2117-2133.
- [23] Baker M J, Lampe P A, Stojanovski D, et al. Stress-induced OMA1 activation and autocatalytic turnover regulate OPA1-dependent mitochondrial dynamics [J]. EMBO J, 2014, 33(6): 578-593.
- [24] Anand R, Wai T, Baker M J, et al. The i-AAA protease YME1L and OMA1 cleave OPA1 to balance mitochondrial fusion and fission [J]. J Cell Biol, 2014, 204(6): 919-929.
- [25] Ahola S, Rivera Mejías P, Hermans S, et al. OMA1-mediated integrated stress response protects against ferroptosis in mitochondrial cardiomyopathy [J]. Cell Metab, 2022, 34(11): 1875-1891.e7.
- [26] Ohba Y, MacVicar T, Langer T. Regulation of mitochondrial plasticity by the i-AAA protease YME1L [J]. Biol Chem, 2020, 401(6/7): 877-890.
- [27] Akepati V R, Müller E C, Otto A, et al. Characterization of OPA1 isoforms isolated from mouse tissues [J]. J Neurochem, 2008, 106(1): 372-383.
- [28] Quintana-Cabrera R, Quirin C, Glytsou C, et al. The cristae modulator Optic atrophy 1 requires mitochondrial ATP synthase oligomers to safeguard mitochondrial function [J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 3399.
- [29] Jang S, Javadov S. OPA1 regulates respiratory super complexes assembly: The role of mitochondrial swelling [J]. Mitochondrion, 2020, 51: 30-39.
- [30] Vogel F, Bornhövd C, Neupert W, et al. Dynamic subcompartmentalization of the mitochondrial inner

- membrane [J]. *J Cell Biol*, 2006, 175(2): 237-247.
- [31] Wai T, García-Prieto J, Baker M J, et al. Imbalanced OPA1 processing and mitochondrial fragmentation cause heart failure in mice [J]. *Science*, 2015, 350(6265): aad0116.
- [32] MacVicar T, Langer T. OPA1 processing in cell death and disease - the long and short of it [J]. *J Cell Sci*, 2016, 129(12): 2297-2306.
- [33] Jiang X, Jiang H, Shen Z R, et al. Activation of mitochondrial protease OMA1 by Bax and Bak promotes cytochrome c release during apoptosis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(41): 14782-14787.
- [34] Estaquier J, Arnoult D. Inhibiting Drp1-mediated mitochondrial fission selectively prevents the release of cytochrome c during apoptosis [J]. *Cell Death Differ*, 2007, 14(6): 1086-1094.
- [35] Olichon A, Baricault L, Gas N, et al. Loss of OPA1 perturbs the mitochondrial inner membrane structure and integrity, leading to cytochrome c release and apoptosis [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(10): 7743-7746.
- [36] Song Z Y, Chen H, Fiket M, et al. OPA1 processing controls mitochondrial fusion and is regulated by mRNA splicing, membrane potential, and Yme1L [J]. *J Cell Biol*, 2007, 178(5): 749-755.
- [37] Piquereau J, Caffin F, Novotova M, et al. Down-regulation of OPA1 alters mouse mitochondrial morphology, PTP function, and cardiac adaptation to pressure overload [J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 94(3): 408-417.
- [38] Kiyuna L A, Albuquerque R P E, Chen C H, et al. Targeting mitochondrial dysfunction and oxidative stress in heart failure: Challenges and opportunities [J]. *Free Radic Biol Med*, 2018, 129: 155-168.
- [39] Nunnari J, Suomalainen A. Mitochondria: In sickness and in health [J]. *Cell*, 2012, 148(6): 1145-1159.
- [40] Friedman J R, Nunnari J. Mitochondrial form and function [J]. *Nature*, 2014, 505(7483): 335-343.
- [41] Murphy E, Ardehali H, Balaban R S, et al. Mitochondrial function, biology, and role in disease: A scientific statement from the American heart association [J]. *Circ Res*, 2016, 118(12): 1960-1991.
- [42] Chen L, Gong Q Z, Stice J P, et al. Mitochondrial OPA1, apoptosis, and heart failure [J]. *Cardiovasc Res*, 2009, 84(1): 91-99.
- [43] Zhang Y, Wang Y, Xu J N, et al. Melatonin attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury via improving mitochondrial fusion/mitophagy and activating the AMPK-OPA1 signaling pathways [J]. *J Pineal Res*, 2019, 66(2): e12542.
- [44] 卢健棋, 唐梅玲, 朱智德, 等. 以中医思维认识心力衰竭 [J]. *中医学报*, 2021, 36(8): 1600-1603.
- Lu J Q, Tang M L, Zhu Z D, et al. Understanding heart failure from TCM thinking [J]. *Acta Chin Med*, 2021, 36(8): 1600-1603.

[责任编辑 兰新新]