

# 香青兰总黄酮调控 GRP78/PERK 信号通路抑制内质网应激减轻阿霉素心脏毒性作用研究

崔丽双<sup>1</sup>, 郑瑞芳<sup>2</sup>, 王 玥<sup>2</sup>, 苏文灵<sup>2</sup>, 排日代·塔伊尔<sup>1</sup>, 邢建国<sup>2\*</sup>, 杨 洁<sup>2\*</sup>

1. 新疆医科大学, 新疆 乌鲁木齐 830011

2. 新疆维吾尔自治区药物研究所, 新疆 乌鲁木齐 830002

**摘要:** **目的** 探讨香青兰总黄酮 (TFDM) 对阿霉素诱导的小鼠心脏毒性的影响及可能的作用机制。**方法** 将小鼠随机分为 6 组: 对照组、模型组、地塞米松 (阳性药,  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 组和 TFDM 低、中、高剂量 ( $45$ 、 $90$ 、 $180 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 组。从第 1 天开始给小鼠 ig 给药, 第 8 天和第 12 天 ip 阿霉素  $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  以诱导小鼠心脏毒性模型。在第 15 天麻醉小鼠, 小鼠监测超声心动图后被处死, 采集血液、心脏样本。苏木精-伊红 (HE) 和 Masson 染色检测心脏病理变化; 试剂盒法检测血清肌酸激酶同工酶 (CK-MB)、乳酸脱氢酶 (LDH)、丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD)、肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 (IL)- $1\beta$ 、IL-6 水平; Western blotting 检测内质网应激关键蛋白表达水平; 免疫荧光法检测葡萄糖调节蛋白 78 (GRP78) 和蛋白激酶 RNA 样内质网激酶 (PERK) 蛋白共定位情况。**结果** 与模型组比较, 中、高剂量 TFDM 显著降低左心室收缩末期内径 (LVIDs), 升高左室射血分数 (LVEF) 和左心室短轴缩短率 (LVFS) ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ); TFDM 显著改善心肌组织的病理损伤; 高剂量 TFDM 显著降低小鼠血清中 CK-MB、LDH、MDA 含量 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ), 显著升高 SOD 活性 ( $P < 0.01$ ); TFDM 高剂量显著降低血清 TNF- $\alpha$  水平, 中、高剂量显著降低血清 IL- $1\beta$  水平, 低、中、高剂量显著降低血清 IL-6 水平 ( $P < 0.01$ ); 高剂量 TFDM 显著降低心脏组织 GRP78 蛋白表达水平, 低、中、高剂量 TFDM 显著降低 PERK 和真核翻译起始因子  $2\alpha$  激酶 (eIF2 $\alpha$ ) 的蛋白表达水平 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ); TFDM 显著降低 GRP78 和 PERK 的共定位。**结论** TFDM 可能通过调控 GRP78/PERK 信号通路, 抑制内质网应激, 从而改善阿霉素诱导的小鼠阿霉素心脏毒性。

**关键词:** 香青兰总黄酮; 阿霉素; 心脏毒性; 葡萄糖调节蛋白 78 (GRP78) /蛋白激酶 RNA 样内质网激酶 (PERK) 信号通路; 内质网应激

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2025)07-1763-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.07.006

## Effect of total flavonoids of *Dracocephalum moldavica* in regulating endoplasmic reticulum stress and reducing doxorubicin induced cardiotoxicity by regulating GRP78/PERK signaling pathway

CUI Lishuang<sup>1</sup>, ZHENG Ruifang<sup>2</sup>, WANG Yue<sup>2</sup>, SU Wenling<sup>2</sup>, PAIRIDAI Tayier<sup>1</sup>, XING Jianguo<sup>2</sup>, YANG Jie<sup>2</sup>

1. Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China

2. Xinjiang Institute of Pharmacy, Urumqi 830002, China

**Abstract: Objective** Effects of total flavonoids from *Dracocephalum moldavica* (TFDM) on doxorubicin-induced cardiotoxicity in mice and its possible mechanism were investigated. **Methods** Mice were randomly divided into six groups: control group, model group, dexamethasone (positive drug,  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) group and TFDM low, medium, and high doses ( $45$ ,  $90$  and  $180 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) groups. From the first day, mice were ig administered drugs, and on the 8th and 12th d, doxorubicin ( $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) was ip to induce a mouse model of cardiotoxicity. On the 15th day, mice were anesthetized, and echocardiography was monitored before they were sacrificed. Blood and heart samples were collected. Hematoxylin-eosin (HE) and Masson staining were used to detect cardiac pathological

收稿日期: 2025-03-24

**基金项目:** 自治区卫生健康青年医学科技人才专项科研项目 (WJWY-202326); 新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目 (2023D01B47); 自治区公益性科研院所基本科研业务费资助项目 (KY2024125)

**作者简介:** 崔丽双 (1999—), 硕士研究生, 从事中药药理研究。E-mail: 15369539412@163.com

**\*通信作者:** 邢建国, 博士生导师, 研究员, 从事中药民族药新药研发及机制研究。E-mail: xjguodd@163.com

杨 洁, 硕士, 助理研究员, 主要从事中药药理研究。E-mail: 1219558934@qq.com

changes, serum creatine kinase isoenzyme (CK-MB), lactate dehydrogenase (LDH), malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin (IL)-1 $\beta$ , and IL-6 levels were detected by kit method, Western blotting was used to detect the expression levels of key proteins in endoplasmic reticulum stress; immunofluorescence was used to detect the co-localization of glucose-regulated protein 78 (GRP78) and protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase (PERK) proteins. **Results** Compared with the model group, medium and high doses of TFDM significantly reduced left ventricular end-systolic diameter (LVIDs), increased left ventricular ejection fraction (LVEF) and left ventricular fractional shortening (LVFS) ( $P < 0.05, 0.01$ ); TFDM significantly improved myocardial tissue pathological damage; the content of CK-MB, LDH and MDA in the serum of the high-dose TFDM group was significantly reduced ( $P < 0.05, 0.01$ ), and SOD activity was significantly increased ( $P < 0.01$ ); High-dose TFDM significantly reduced TNF- $\alpha$  levels, medium and high doses significantly reduced IL-1 $\beta$  levels, and low, medium and high doses significantly reduced IL-6 levels ( $P < 0.01$ ); The expression levels of GRP78 protein in the high-dose TFDM group and PERK and eukaryotic translation initiation factor 2 $\alpha$  kinase (eIF2 $\alpha$ ) proteins in the low, medium and high-dose groups were significantly decreased ( $P < 0.05, 0.01$ ); TFDM significantly reduced the co-localization of GRP78 and PERK. **Conclusion** TFDM may improve DOX-induced cardiotoxicity in C57BL/6J mice by regulating the GRP78/PERK signaling pathway, inhibiting endoplasmic reticulum stress. **Key words:** total flavonoids of *Dracocephalum moldavica* L.; doxorubicin; cardiotoxicity; glucose-regulated protein 78 (GRP78)/protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase (PERK) signaling pathway; endoplasmic reticulum stress

阿霉素是一种蒽环类抗生素, 广泛用于多种恶性肿瘤的化疗治疗, 如急性白血病、恶性淋巴瘤<sup>[1]</sup>、乳腺癌等<sup>[2]</sup>。然而, 阿霉素剂量相关等心脏毒性表现为心律失常、心力衰竭等, 限制了其临床应用<sup>[3]</sup>, 其病理生理过程非常复杂, 涉及多种机制, 如内质网应激、线粒体功能障碍、氧化应激、DNA 损伤和阿霉素治疗后心脏免疫细胞浸润等, 这些机制相互作用, 共同促进阿霉素心脏毒性的发展<sup>[4]</sup>。内质网应激是心血管疾病中重要的病理生理过程之一, 它可导致内质网蛋白折叠能力受损, 进而使未折叠和错误折叠的蛋白质积累, 破坏内质网稳态<sup>[5]</sup>, 这为阿霉素心脏毒性的治疗提供了新的研究方向。

香青兰是唇形科植物香青兰 *Dracocephalum Moldavica* L. 的干燥全草, 又名巴迪然吉布亚, 是维吾尔族习用药材, 其单味药材制剂益心巴迪然吉布亚颗粒, 经临床验证具有显著治疗心血管疾病的效果<sup>[6]</sup>。香青兰主要有效成分为黄酮类<sup>[7]</sup>, 研究表明, 香青兰有效部位能够减轻凋亡和氧化应激水平<sup>[8]</sup>, 抑制炎症反应<sup>[9]</sup>, 从而发挥心血管保护<sup>[10-11]</sup>和抗菌活性<sup>[12]</sup>。此外, 香青兰总黄酮 (total flavonoids from *Dracocephalum moldavica*, TFDM) 还具有治疗高血压、高血脂、抗阿霉素心脏毒性、抗动脉粥样硬化和保护心肌缺血-再灌注损伤等多种药理作用<sup>[6]</sup>, 在防治心血管疾病方面具有广阔的应用前景。本研究首次从内质网应激的角度, 探讨 TFDM 对阿霉素心脏毒性保护作用的机制, 利用阿霉素诱发小鼠心脏毒性模型, 观察 TFDM 在阿霉素心脏毒性小鼠中的表现, 并探讨其通过调节内质网发挥保护作用的具体机制。

## 1 材料

### 1.1 实验动物

SPF 级 C57BL/6J 小鼠 83 只, 体质量 (20 $\pm$ 2) g, 雄性, 购于河南斯克贝斯生物科技股份有限公司, 生产许可证号 SCXK (豫) 2020-0005, 动物实验经新疆维吾尔自治区药物研究所实验动物伦理委员会审查并批准 (批准号 XJIMM-20240103)。小鼠被饲养在受控环境中, 不受限制的获得食物和水, 并经历 12 h 的光/暗循环。

### 1.2 药品与主要试剂

香青兰采自新疆和田皮山县, 经新疆维吾尔自治区药物研究院何江研究员鉴定为唇形科植物香青兰 *Dracocephalum Moldavica* L. 的干燥地上部分。香青兰药材粉碎成粗粉, 40% 乙醇回流提取, 提取液减压浓缩得到香青兰浓缩液, 浓缩液经大孔树脂吸附分离纯化, 浓缩干燥后, 得 TFDM, 黄酮质量分数为 53.06%。

阿霉素 (批号 S1208) 购自美国 Selleck 公司; 地塞米松 (DXM) (批号 H50020446) 购自重庆科瑞制药有限公司; 乳酸脱氢酶 (LDH) 测定试剂盒 (批号 A020-2-2) 购自南京建成生物工程研究所; 小鼠肌酸激酶同工酶 (CK-MB) ELISA 检测试剂盒 (批号 JL12422)、小鼠白细胞介素 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) ELISA 试剂盒 (批号 JLW18442)、小鼠白细胞介素 6 (IL-6) ELISA 试剂盒 (批号 JLW20268) 购自上海将来实业股份有限公司; 丙二醛 (MDA) 比色法试剂盒 (批号 E-BC-K025-M)、超氧化物歧化酶 (SOD) 比色法试剂盒 (批号 E-BC-K019-M)、微量法小鼠肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ELISA 试剂盒 (批号 E-MSEL-

M0002)购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司;葡萄糖调节蛋白 78 (GRP78) 抗体(批号 AF5366)、蛋白激酶 RNA 样内质网激酶 (PERK) 抗体(批号 Oa18065)、真核翻译起始因子 2 $\alpha$  激酶 (eIF2 $\alpha$ ) 抗体(批号 9k1805)、山羊抗小鼠 IgG/辣根过氧化物酶标记(货号 19z2345)、山羊抗兔 IgG/辣根过氧化物酶标记(批号 237451119)购自美国 Affinity 公司;小鼠抗 GAPDH 抗体(批号 TA-08)购自北京中山金桥生物技术有限公司。

### 1.3 主要仪器

超声诊断系统 (PHILIPS 公司); SPARK 多功能微孔板检测仪 (瑞士 TECAN SPARK 公司); FUSION Fx6 多功能成像系统(法国 VILBER 公司); PowerPacTM Universal Power Supply 电泳仪 (美国 Bio-Rad 公司); DGG-9240A 电热恒温鼓风干燥箱 (上海齐欣科学仪器有限公司); Life Technologies 4471136 荧光显微镜 (美国赛默飞世尔科技公司); TGL-16k 台式高速冷冻离心机 (湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)。

## 2 方法

### 2.1 动物分组、造模及给药

适应环境 1 周后,将小鼠随机分为 6 组:对照组、模型组、DXM (阳性药, 5 mg·kg<sup>-1</sup>) 组和 TFDM 低、中、高剂量 (45、90、180 mg·kg<sup>-1</sup>) [13] 组。实验从第 1 天开始给小鼠 ig 给药,第 8 天和第 12 天 ip 阿霉素 10 mg·kg<sup>-1</sup> 以诱导小鼠心脏毒性模型[13]。在第 15 天麻醉小鼠,所有小鼠监测超声心动图后被处死,并采集其血液、心脏样本,保存在-80 °C 冰箱。

### 2.2 体质量检测及心动超声检测各组小鼠心功能

实验全程记录小鼠体质量,其中,每只小鼠第 9 天的体质量减去第 8 天的体质量,得到体质量变化克数;使用 L15-7io/S12-4 高频扫描探头进行经胸超声心动图检查,以测量心功能。调整异氟烷的吸入流量以麻醉小鼠,胸前区备皮,备皮完成后仰位固定,获得 M 模式下二维视图,直接测量左心室舒张末期内径 (LVIDd) 和左心室收缩末期内径 (LVIDs),计算左室射血分数 (LVEF) 和左心室短轴缩短率 (LVFS)。

### 2.3 苏木精-伊红 (HE) 染色、Masson 染色观察心肌组织病理学变化

小鼠心脏用 4%多聚甲醛固定 36~72 h,后脱水包埋在石蜡中。进行心肌组织切片,厚度为 5  $\mu$ m。

石蜡切片用 HE 染色以观察心肌细胞形态,Masson 染色检测胶原沉积,评估心肌纤维化。

### 2.4 小鼠血清 CK-MB、LDH、MDA、SOD 及炎症因子水平检测

血液样本经 1 000 $\times$ g 离心 10 min,试剂盒法检测血清中 CK-MB、LDH、MDA、SOD 水平来评估心肌损伤程度;试剂盒法检测 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 水平。

### 2.5 免疫荧光染色检测

心脏石蜡切片脱蜡后,用柠檬酸修复液(pH 6.0)在沸水中煮沸,亚沸状态 10 min 后,冷却 30 min。用磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗后,切片用含有 5% BSA 的 PBS 在 37 °C 下封闭 1 h。PBS 冲洗后切片与一抗在 4 °C 下孵育过夜,然后与 Alexafluoro 偶联的荧光二抗在室温下孵育 1 h。细胞核用 4'、6-二氨基-2-苯二酚 (DAPI) 染色 10 min,盖玻片封片。图像采集使用荧光显微镜进行。

### 2.6 Western blotting 检测相关蛋白表达

使用强效裂解液 (RIPA) 添加 1%蛋白酶抑制剂和 1%磷酸酶抑制剂混合物从心脏组织中提取总蛋白。采用 BCA 定量试剂盒测定蛋白浓度。用十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 分离等量蛋白质,转移到 PVDF 膜上。用 5%脱脂牛奶封闭膜 2 h,并在 4 °C 下用一抗孵育过夜。辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 或山羊抗小鼠 IgG (1:2 000 稀释)孵育 2 h。采用凝胶成像系统拍照并进行分析,Image J 软件进行分析。

### 2.7 统计学分析

数据使用 GraphPad Prism 8.0 软件进行可视化处理和统计学分析,数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示。非配对  $t$  检验进行两组间比较,多组样本间通过单因素方差分析 (one-way ANOVA) 进行比较。

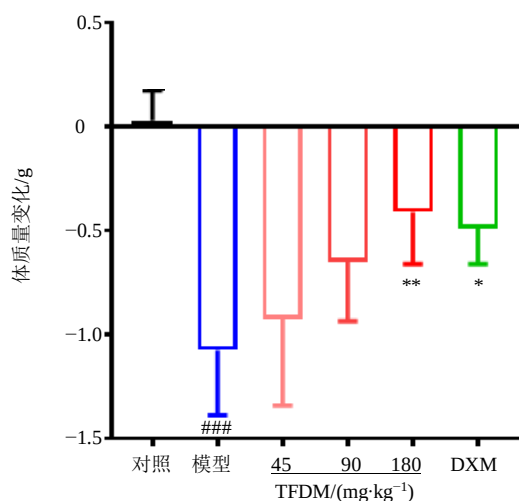
## 3 结果

### 3.1 TFDM 对阿霉素诱导心脏毒性小鼠体质量和心功能的影响

如图 1 所示,与对照组相比,模型组小鼠体质量明显下降 ( $P < 0.001$ );与模型组比较,TFDM 高剂量组和 DXM 组小鼠体质量显著升高 ( $P < 0.05$ 、0.01)。

与对照组相比,模型组小鼠 LVIDs、LVIDd 增厚 ( $P < 0.01$ ),LVEF 和 LVFS 下降 ( $P < 0.01$ );与模型组比较,90、180 mg·kg<sup>-1</sup> 的 TFDM 干预显著降低了 LVIDs,升高了 LVEF 和 LVFS ( $P < 0.05$ 、

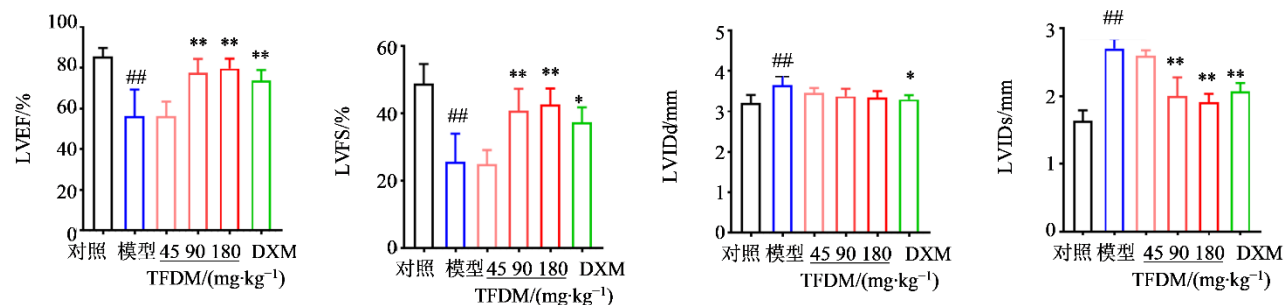




与对照组比较: ### $P<0.001$ ; 与模型组比较: \* $P<0.05$  \*\* $P<0.01$ 。  
### $P<0.001$  vs control group; \* $P<0.05$  \*\* $P<0.01$  vs model group.

图 1 TFDM 对阿霉素诱导心脏毒性小鼠的体质量的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

Fig. 1 Effects of TFDM on body weight in DOX-induced cardiotoxic mice ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )



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 2 TFDM 对阿霉素诱导心脏毒性小鼠心功能的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

Fig. 2 Effects of TFDM on cardiac function in DOX-induced cardiotoxic mice ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

### 3.3 TFDM 对阿霉素诱导的心脏毒性小鼠血清炎症因子

与对照组相比,模型组小鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6 水平明显升高 ( $P<0.01$ );与模型组比较,TFDM 高剂量显著降低 TNF- $\alpha$  水平,中、高剂量显著降低 IL-1 $\beta$  水平,低、中、高剂量显著降低 IL-6 水平 ( $P<0.01$ ),同时阳性药 DXM 对炎症因子的表达也有类似的调控趋势 ( $P<0.01$ )。结果见图 4。

### 3.4 TFDM 对阿霉素诱导心脏毒性小鼠内质网应激的影响

与对照组相比,模型组小鼠心脏组织 GRP78、PERK 和 eIF2 $\alpha$  蛋白表达显著升高 ( $P<0.01$ );与模型组比较,TFDM 高剂量组 GRP78 蛋白表达水平和低、中、高剂量组 PERK 和 eIF2 $\alpha$  的蛋白表达水

平显著下降 ( $P<0.05$ 、 $0.01$ )。结果表明,TFDM 能

### 3.2 TFDM 对阿霉素诱导的心脏毒性小鼠心肌损伤的影响

阿霉素诱导的小鼠心脏组织表现为细胞空泡数量增加,成纤维细胞明显升高,伴有炎症细胞浸润和心肌细胞肌浆溶解;与模型组比较,TFDM 和 DXM 组纤维排列整齐,细胞排列更加规则,成纤维细胞明显减少,炎症细胞浸润较少 (图 3-A、B)。

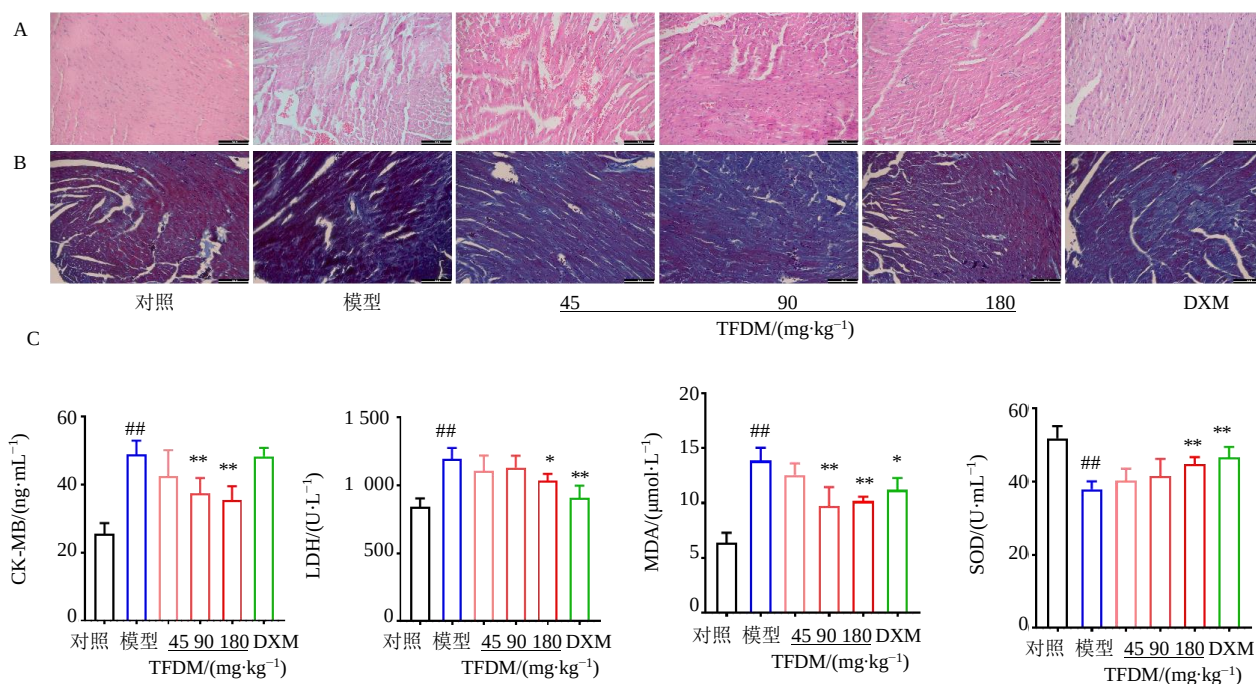
模型组小鼠血清中的 CK-MB、LDH、MDA 的含量较对照组升高 ( $P<0.01$ ),SOD 降低 ( $P<0.01$ );与模型组比较,180 mg $\cdot$ kg $^{-1}$  的 TFDM 组小鼠血清中的 CK-MB、LDH、MDA 含量显著降低 ( $P<0.05$ 、 $0.01$ ),SOD 活性显著升高 ( $P<0.01$ ) (图 3-C)。

平显著下降 ( $P<0.05$ 、 $0.01$ )。

免疫荧光染色结果显示,与对照组相比,模型组小鼠心脏中 GRP78 和 PERK 共定位增加,而 TFDM 给药后显著降低了 GRP78 和 PERK 的共定位。结果见图 5,结果表明,TFDM 可以预防内质网应激导致心脏损伤。

## 4 讨论

研究表明,阿霉素引起的心脏毒性最终会导致细胞损伤,进而诱发心肌收缩功能的进行性丧失,最终出现心力衰竭<sup>[14]</sup>。这与 DNA 损伤<sup>[15]</sup>、活性氧生成增加<sup>[16]</sup>、钙离子浓度不平衡<sup>[17]</sup>和内质网应激<sup>[18]</sup>介导的细胞损伤有关。尽管阿霉素心脏毒性涉及多种信号通路,但在阿霉素治疗期间利用中草药和天然产物或其衍生物来减轻化疗引起的不良反应,能

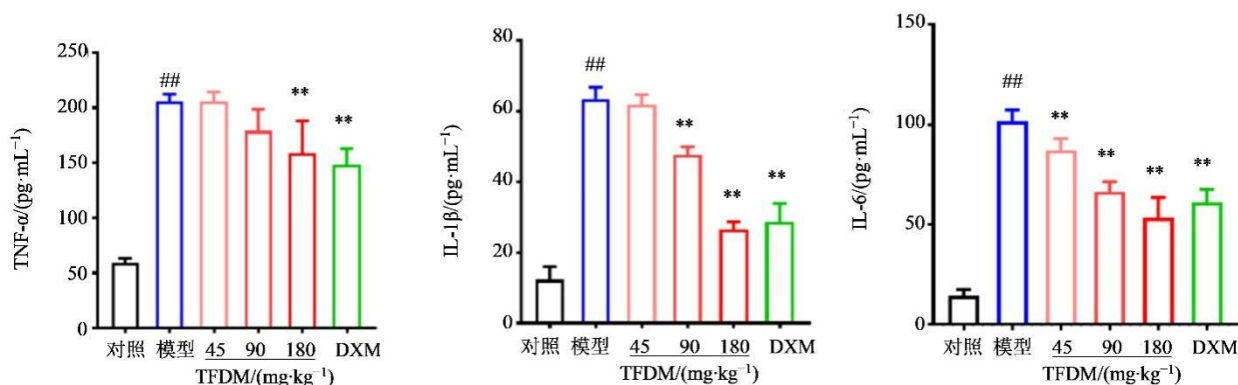


A-HE 染色 (×200); B-Masson 染色 (×200); C-心肌酶谱。

A-HE staining (×200); B-Masson staining (×200); C-myocardial enzyme spectrum.

图 3 TFDM 对阿霉素导致的小鼠心肌组织和心肌酶谱的影响 ( $\bar{X} \pm s$ ,  $n=3$ )

Fig. 3 Effects of TFDM on myocardial tissue and myocardial enzyme spectrum in DOX-induced mice ( $\bar{X} \pm s$ ,  $n=3$ )



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

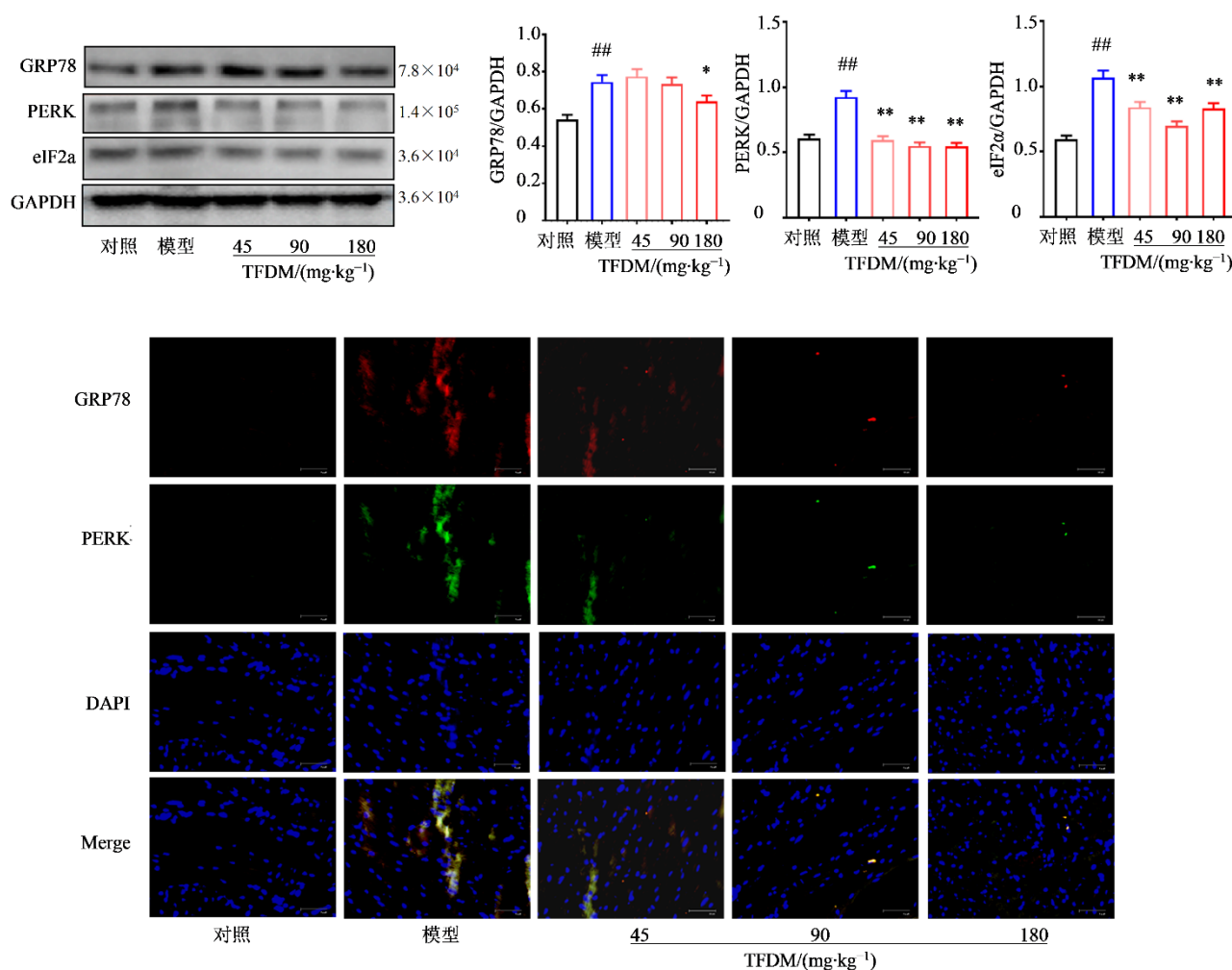
<sup>##</sup> $P < 0.01$  vs control group; <sup>\*</sup> $P < 0.05$  <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$  vs model group.

图 4 TFDM 对阿霉素诱导的心脏毒性小鼠炎症因子的影响 ( $\bar{X} \pm s$ ,  $n=6$ )

Fig. 4 Effects of TFDM on inflammatory factors in DOX-induced cardiotoxic mice ( $\bar{X} \pm s$ ,  $n=6$ )

降低心脏毒性, 提高患者存活率<sup>[19]</sup>。香青兰作为治疗心脑血管疾病药物广泛应用于维吾尔医和蒙古医, 其单味药制剂益心巴迪然吉布亚颗粒, 临床应用后发现其有较好的治疗冠心病的作用<sup>[20]</sup>。本课题组研究发现<sup>[21]</sup>, TFDM 能够抑制阿霉素引起的小鼠心脏毒性和血管内皮细胞毒性, 抑制内皮功能障碍、保护线粒体代谢平衡, 减少炎症反应, 从而发挥心脏保护作用。

香青兰有效部位也可通过调节内质网应激保护大鼠 H9c2 心肌细胞免受损伤<sup>[4]</sup>, 内质网作为细胞内关键的膜性细胞器, 负责蛋白质的合成、折叠与分泌。当内外源性刺激导致内质网蛋白质折叠功能受损时, 未折叠或错误折叠的蛋白质会在内质网腔内积累, 引发内质网应激。为恢复稳态, 细胞启动未折叠蛋白反应。GRP78 是内质网的重要伴侣, 内质网应激时, 内质网中的 GRP78 与应激下调控



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 Western blotting 和免疫荧光检测 TFDM 对阿霉素诱导心脏毒性小鼠内质网应激相关蛋白表达水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

Fig. 5 Western blotting and immunofluorescence analysis of TFDM effects on ERS-related protein expression levels in DOX-induced cardiotoxic mice ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

mRNA 翻译衰减的关键蛋白质 PERK 分离, PERK 寡聚化被激活, 进而特异性激活 eIF2 $\alpha$ , 其能有效抑制再循环至活性 GTP 结合形态, 从而阻碍蛋白质翻译的启动, 阻止新合成的蛋白质进入应激内质网腔来维护细胞稳定, 这种翻译减弱是由 eIF2 $\alpha$  所介导的, 最终导致细胞内整体蛋白合成的下调, 从而起到保护细胞免受内质网应激损伤的作用。当这种应激过强或持久不减时, 过度激活的内质网应激加剧阿霉素心脏毒性的病情进展。

本研究结果提示, 阿霉素影响小鼠的体质量, 还影响心脏功能, 表现为 LVIDs 增厚, LVEF 和 LVFS 下降, 给予 TFDM 后, 体质量得以趋近于正

常, LVEF 和 LVFS 有所提升, LVIDs 适当恢复, 表明 TFDM 可以降低阿霉素诱导的小鼠心脏毒性损伤程度。心肌组织病理学检测结果发现, 阿霉素诱导的小鼠心肌细胞呈空泡状数, 成纤维细胞数量明显升高, 还伴随炎症细胞浸润, TFDM 给药后, 心肌纤维排列整齐, 成纤维细胞明显减少, 炎症细胞浸润也随之减少。小鼠血清中 CK-MB、LDH、MDA 的含量较对照组升高, SOD 降低; TFDM 给药后, CK-MB、LDH、MDA 的含量降低, SOD 升高。以上结果提示 TFDM 能有效缓解心肌损伤, 并在一定程度上保护心肌免于炎症细胞浸润。这得到了进一步验证, 本研究发现 TFDM 可以有效抑制阿霉素诱



导的炎症因子, 如 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6。

机制研究发现, 阿霉素心脏毒性的发生确与内质网应激密切相关, 表现为阿霉素上调了 GRP78/PERK 的蛋白表达, 进而特异性激活 eIF2 $\alpha$ , 诱发内质网应激, TFDM 给药后, 内质网应激相关蛋白较模型组均有所改善, 这些结果表明, TFDM 通过抑制内质网应激相关蛋白的表达来缓解阿霉素诱导的心肌损伤。这一结论通过免疫荧光染色得以验证。

TFDM 可通过调节 GRP78/PERK 通路导致的内质网应激抗阿霉素心脏毒性。本研究为 TFDM 作为临床候选心脏保护药物提供参考, 为其在治疗内质网应激所致阿霉素心脏毒性中的药物研发提供科学数据支持。然而本研究也有一定局限性, 首先本研究采用阿霉素诱导的小鼠阿霉素心脏毒性模型, 可能不能完全反映人类阿霉素心脏毒性的复杂性, 因此本研究结果在临床应用中的推广有待进一步验证; 其次机制研究方面, 课题组前期发现 TFDM 中主要活性成分田蓟苷可以通过调控 Ca<sup>2+</sup>进而影响线粒体功能, 而 Ca<sup>2+</sup>在内质网和线粒体的相互作用中扮演者重要的角色<sup>[22]</sup>, 因此后续将利用慢病毒转染或者 siRNA 技术探索 GRP78 调控内质网应激的具体机制、TFDM 调控 GRP78 保护内质网的作用机制以及内质网与线粒体之间的联系。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Su W Q, Stricherz M, Martin A, et al. The efficacy of pediatric-inspired regimens vs hyper-CVAD in the treatment of adolescents and young adults with acute lymphoblastic leukemia: A systematic review and meta-analysis [J]. Am J Hematol, 2025, 100(5): 847-859.
- [2] Jensen M B, Balslev E, Knoop A S, et al. Adjuvant docetaxel and cyclophosphamide with or without epirubicin for early breast cancer: Final analysis of the randomized DBCG 07-READ trial [J]. J Clin Oncol, 2025, 43(4): 373-380.
- [3] 吕清波, 潘均华, 李帅, 等. 阿霉素急性心脏毒性大鼠造模方法研究 [J]. 药物评价研究, 2022, 45(2): 301-307.  
Lv Q B, Pan J H, Li S, et al. Study on model establishment of adriamycin induced acute cardiotoxicity in rats [J]. Drug Eval Res, 2022, 45(2): 301-307.
- [4] Qian X Y, Yao M D, Xu J Y, et al. From cancer therapy to cardiac safety: The role of proteostasis in drug-induced cardiotoxicity [J]. Front Pharmacol, 2024, 15: 1472387.
- [5] 王天, 刘砥威, 王桐叶, 等. 香青兰总黄酮对缺氧缺氧/复氧损伤和内质网应激诱导 H9c2 细胞凋亡的影响 [J]. 中国中药杂志, 2025, 50(5): 1321-1330.  
Wang T, Liu D W, Wang T Y, et al. Effects of total flavonoids of *Dracocephalum moldavica* on apoptosis of H9c2 cells induced by OGD/R injury and endoplasmic reticulum stress [J]. China J Chin Mater Med, 2025, 50(5): 1321-1330.
- [6] Zheng R F, Kader K, Liu D W, et al. A network pharmacology approach to decipher the mechanism of total flavonoids from *Dracocephalum moldavica* L. in the treatment of cardiovascular diseases [J]. BMC Complement Med Ther, 2024, 24(1): 15.
- [7] 谭梅娥, 何承辉, 帕依曼·亥米提, 等. 高效液相色谱法同时测定维吾尔药香青兰有效部位中 10 个化学成分的含量 [J]. 医药导报, 2024, 43(4): 567-571.  
Tan M E, He C H, Payman H, et al. Simultaneous determination of 10 effective components in the active parts of uygur medicine *Dracocephalum moldavica* L. by HPLC [J]. Her Med, 2024, 43(4): 567-571.
- [8] Jin M, Yu H, Jin X, et al. *Dracocephalum moldavica* L. extracts protect H9c2 cardiomyocytes against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced apoptosis and oxidative stress [J]. Biomed Res Int, 2020, 2020: 8379358.
- [9] He C H, Lv J M, Khan G J, et al. Total flavonoid extract from *Dracocephalum moldavica* L. improves pulmonary fibrosis by reducing inflammation and inhibiting the hedgehog signaling pathway [J]. Phytother Res, 2023, 37(7): 2745-2758.
- [10] Zhan M, Ma M, Mo X Y, et al. *Dracocephalum moldavica* L. An updated comprehensive review of its botany, traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and application aspects [J]. Fitoterapia, 2024, 172: 105732.
- [11] 都研文, 郑瑞芳, 曾诚, 等. 香青兰总黄酮对阿霉素心肌毒性的保护机制研究 [J]. 中草药, 2019, 50(24): 6045-6051.  
Du Y W, Zheng R F, Zeng C, et al. Protective effect and mechanism of total flavonoids of *Dracocephalum moldavica* on doxorubicin myocardial toxicity [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2019, 50(24): 6045-6051.
- [12] Simea Ş, Ielciu I, Hanganu D, et al. Evaluation of the cytotoxic, antioxidative and antimicrobial effects of *Dracocephalum moldavica* L. cultivars [J]. Molecules, 2023, 28(4): 1604.
- [13] 新疆维吾尔自治区药物研究所. 香青兰提取物在制备抗心脏毒性作用药物中的应用: 中国, 202111140838.7 [P]. 2021-11-12.

- Xinjiang Uygur Autonomous Region Institute of Materia Medica. Application of *Cymbidium goeringii* extract in the preparation of anticardiotoxic drugs: China, 202111140838.7 [P]. 2021-11-12.
- [14] Xiong W Y, Li B, Pan J N, et al. Mitochondrial amount determines doxorubicin-induced cardiotoxicity in cardiomyocytes [J]. Adv Sci (Weinh), 2025, 12(12): e2412017.
- [15] Kelly C, Kiltschewskij D J, Leong A J W, et al. Identifying common pathways for doxorubicin and carfilzomib-induced cardiotoxicities: Transcriptomic and epigenetic profiling [J]. Sci Rep, 2025, 15(1): 4395.
- [16] Wang F, Wang K, Fang B R, et al. Hollow mesoporous Prussian blue nanozymes alleviate doxorubicin-induced cardiotoxicity by restraining oxidative stress associated with Nrf2 signaling [J]. J Colloid Interface Sci, 2025, 686: 1074-1088.
- [17] Nakamura Y, Yamamoto T, Kobayashi S, et al. Concomitant administration of dantrolene is sufficient to protect against doxorubicin-induced cardiomyopathy [J]. JACC CardioOncol, 2024, 7(1): 38-52.
- [18] Sun M L, Zhang X, Tan B X, et al. Potential role of endoplasmic reticulum stress in doxorubicin-induced cardiotoxicity-an update [J]. Front Pharmacol, 2024, 15: 1415108.
- [19] 王海坤, 吴娜, 苏丹, 等. 中药注射液防治蒽环类抗生素致心脏损伤的网状 Meta 分析 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(16): 4517-4528.
- Wang H K, Wu N, Su D, et al. Network Meta-analysis of traditional Chinese medicine injections [J]. China J Chin Mat Med, 2022, 47(16): 4517-4528.
- [20] Yu N, He C H, Awuti G, et al. Simultaneous determination of six active compounds in Yixin badiranjibuya granules, a traditional Chinese medicine, by RP-HPLC-UV method [J]. J Anal Methods Chem, 2015, 2015: 974039.
- [21] 李少将, 苏文灵, 徐磊, 等. 基于 VEGF-B/AMPK $\alpha$  通路研究香青兰总黄酮对阿霉素诱导内皮细胞损伤的保护作用 [J]. 中国药理学通报, 2022, 38(5): 726-732.
- Li S J, Su W L, Xu L, et al. Study of the protective effect of total flavonoids of *Dracocephalum moldavica* L. on doxorubicin induced injury in HUVECs based on VEGF-B /AMPK $\alpha$  pathway [J]. Chin Pharmacol Bullet, 2022, 38(5): 726-732.
- [22] Puebla H A, Huerta H, Quezada G C, et al. Calcium (Ca<sup>2+</sup>) fluxes at mitochondria-ER contact sites (MERCs) are a new target of senolysis in therapy-induced senescence (TIS) [J]. NPJ Aging, 2025, 21, 11(1): 11.

[责任编辑 兰新新]