

三七皂苷 R₁ 通过激活 SLC7A11/GPX4 通路抑制铁死亡改善小鼠心肌缺血再灌注损伤后心脏重塑

常 猛^{1,2,3,4}, 陈漪漪⁴, 范亚红^{2,3,5}, 廖佳佳^{2,3}, 刘海朵^{1,2,3}, 许 滔⁴, 沈祥春^{2,3*}, 刘兴德^{1,4*}

1. 贵州中医药大学第二临床医学院, 贵州 贵阳 550025
2. 贵州医科大学 天然药物资源高效利用重点实验室, 贵州 贵阳 550025
3. 贵州医科大学 贵州省特色天然药物高效利用工程技术研究中心, 贵州 贵阳 550025
4. 贵州中医药大学第二附属医院, 贵州 贵阳 550003
5. 贵州医科大学附属医院, 贵州 贵阳 550001

摘 要: **目的** 探讨三七皂苷 R₁ (notoginsenoside R₁, NGR1) 对小鼠心肌缺血再灌注损伤 (myocardial ischemia-reperfusion injury, MIRI) 后心脏重塑的影响及其机制。 **方法** 通过结扎小鼠冠状动脉前降支并再灌注构建 MIRI 后心脏重塑模型, 给予 NGR1 干预 3 周。测定小鼠心脏指数、心腔比; 采用小动物超声仪检测左室舒张末期容积 (left ventricular end-diastolic volume, LVEDV)、左室收缩末期容积 (left ventricular end-systolic volume, LVESV)、左室射血分数 (left ventricular ejection fraction, LVEF)、左室短轴缩短率 (left ventricular fractional shortening, LVFS); 通过小麦胚芽凝集素 (wheat germ agglutinin, WGA) 荧光染色检测心肌细胞横截面积; Masson 染色计算心脏胶原体积分数 (collagen volume fraction, CVF); Western blotting 检测心肌组织 collagen I、collagen III、心房利钠肽 (atrial natriuretic peptide, ANP)、脑钠肽 (brain natriuretic peptide, BNP)、转铁蛋白受体 1 (transferrin receptor 1, TFR1)、酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 4 (acyl-CoA synthetase long-chain family member 4, ACSL4)、溶质载体家族 7 成员 11 (solute carrier family 7 member 11, SLC7A11)、谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4) 的蛋白表达; 通过网络药理学初步探讨 NGR1 抑制 MIRI 后心脏重塑的可能机制; 采用试剂盒检测心肌组织亚铁离子 (Fe²⁺)、脂质过氧化物 (lipid peroxide, LPO) 含量; 通过透射电镜观察心肌线粒体损伤情况。 **结果** 与假手术组比较, 模型组小鼠心脏指数、心腔比、LVEDV、LVESV、CVF 显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01), 心肌组织 collagen I、collagen III、ANP、BNP、TFR1 和 ACSL4 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$), Fe²⁺、LPO 含量显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01), 线粒体膜密度增加及嵴减少, SLC7A11、GPX4 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.01$)。与模型组比较, NGR1 给药组小鼠心脏指数、心腔比、LVEDV、LVESV、CVF 显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 心肌组织 collagen I、collagen III、ANP、BNP、TFR1 和 ACSL4 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), Fe²⁺、LPO 含量显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 线粒体损伤改善, SLC7A11、GPX4 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01)。 **结论** NGR1 可显著改善小鼠 MIRI 后心脏重塑, 其机制可能与激活 SLC7A11/GPX4 通路以抑制心肌细胞铁死亡有关。 **关键词:** 三七皂苷 R₁; SLC7A11/GPX4 通路; 铁死亡; 心肌缺血再灌注损伤; 心脏重塑

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)01-0175-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.01.017

Notoginsenoside R₁ improves myocardial remodeling after myocardial ischemia-reperfusion in mice by activating SLC7A11/GPX4 pathway and inhibiting ferroptosis

CHANG Meng^{1, 2, 3, 4}, CHEN Yiyi⁴, FAN Yahong^{2, 3, 5}, LIAO Jiajia^{2, 3}, LIU Haiduo^{1, 2, 3}, XU Tao⁴, SHEN Xiangchun^{2, 3}, LIU Xingde^{1, 4}

1. Second Clinical Medical College, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China

2. Key Laboratory of Efficient Utilization of Natural Medicinal Resources, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China

收稿日期: 2025-10-19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82574623); 国家自然科学基金资助项目 (82260987); 贵州省高层次创新型人才项目 (黔科合平台人才-GCC[2023]048); 贵州省教育厅“百校千企科技攻关揭榜挂帅”项目 (黔教技[2025]017 号); 贵州省研究生科研基金资助项目 (2024YJSKYJJ355); 贵州中医药大学研究生创新计划项目 (YCXYB2025018)

作者简介: 常 猛, 博士研究生, 研究方向为中西医结合防治心血管疾病。E-mail: changmeng@gzy.edu.cn

***通信作者:** 刘兴德, 教授, 博士生导师, 研究方向为中西医结合防治心血管疾病。E-mail: 952419913@qq.com

沈祥春, 教授, 博士生导师, 研究方向为心血管药物药理研究。E-mail: shenxiangchun@126.com

3. Guizhou Provincial Engineering Research Center for Efficient Utilization of Characteristic Natural Medicines, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China
4. The Second Affiliated Hospital of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550003, China
5. The Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550001, China

Abstract: Objective To investigate the effect and mechanism of notoginsenoside R₁ (NGR1) on cardiac remodeling after myocardial ischemia-reperfusion injury (MIRI) in mice. **Methods** A model of cardiac remodeling after myocardial ischemia-reperfusion injury (MIRI) was established by ligating the anterior descending branch of the coronary artery in mice. After three weeks of intervention with NGR1, the cardiac index and heart weight/tibia length of mice were measured. The left ventricular end-diastolic volume (LVEDV), left ventricular end-systolic volume (LVESV), left ventricular ejection fraction (LVEF) and left ventricular fractional shortening (LVFS) were measured using a small animal ultrasound instrument. The cross-sectional area of myocardial cells was calculated by wheat germ agglutinin (WGA) fluorescence staining. The collagen volume fraction (CVF) of heart was calculated by Masson staining. The protein expressions of collagen I, collagen III, atrial natriuretic peptide (ANP), brain natriuretic peptide (BNP), transferrin receptor 1 (TFR1), acyl-CoA synthetase long-chain family member 4 (ACSL4), solute carrier family 7 member 11 (SLC7A11) and glutathione peroxidase 4 (GPX4) in myocardial tissue were detected by Western blotting. The possible mechanism of NGR1 inhibiting cardiac remodeling after MIRI was preliminarily explored through network pharmacology. The contents of iron ions (Fe²⁺) and lipid peroxide (LPO) in myocardial tissue were detected using kits. The damage of myocardial mitochondria was observed by transmission electron microscopy. **Results** Compared with sham group, cardiac index, heart weight/tibia length, LVEDV, LVESV and CVF of mice in model group were significantly increased ($P < 0.05, 0.01$), protein expressions of collagen I, collagen III, ANP, BNP, TFR1 and ACSL4 in myocardial tissue were significantly increased ($P < 0.01$), contents of Fe²⁺ and LPO were significantly increased ($P < 0.05, 0.01$), mitochondrial membrane density was increased and cristae was decreased, SLC7A11 and GPX4 protein expressions were significantly decreased ($P < 0.01$). Compared with model group, cardiac index, heart weight/tibia length, LVEDV, LVESV and CVF of mice in NGR1 administration groups were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$), protein expressions of collagen I, collagen III, ANP, BNP, TFR1 and ACSL4 were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$), contents of Fe²⁺ and LPO were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$), mitochondrial damage was improved, SLC7A11 and GPX4 protein expressions were significantly increased ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusion** NGR1 could significantly improve cardiac remodeling in mice after MIRI, and its mechanism may be related to the activation of SLC7A11/GPX4 pathway to inhibit ferroptosis of cardiomyocytes.

Key words: notoginsenoside R₁; SLC7A11/GPX4 pathway; ferroptosis; myocardial ischemia-reperfusion injury; cardiac remodeling

急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 和心力衰竭 (heart failure, HF) 具有高发病率和高死亡率的特点, 是严重威胁人类健康和耗费健康保障投入的 2 大心血管疾病^[1]。AMI 是 HF 最主要的病因^[2], 而 HF 是 AMI 最常见且决定其预后的并发症^[3], 故抑制 AMI 后 HF 发生对改善 AMI 预后及降低 HF 发病率均具有重要意义。临床上可将 AMI 后 HF 分为初次出现时发生的 HF、AMI 指数住院期间 HF 及指数住院出院后 HF^[4]。及时再灌注和早期长程使用抗心脏重塑药物是 AMI 后 HF 防治的 2 大有效策略, 但近期研究显示即使在成功再灌注后使用抗心脏重塑药物, 指数住院出院后 HF 发生率仍持续较高^[4-5]。再灌注治疗是 AMI 后 HF 防治的基石, 其有效降低了指数住院期间 HF 发生率, 但对指数住院出院后 HF 的预防作用有限^[4], 其重要原因是再灌注本身会作为一种病因损伤心肌, 即心肌缺血再灌注损伤 (myocardial ischemia-reperfusion

injury, MIRI), 而目前尚无转化于临床抗 MIRI 特效药^[6]。AMI 后 HF 发生是心肌细胞死亡、神经激素激活、心肌纤维化等多种复杂病理过程相互作用引发心脏重塑失代偿的结果^[4,7], 靶向心脏重塑是 AMI 后 HF 的药理学策略^[8]。虽然抗心脏重塑药物取得了可喜进展, 但即使使用最佳抗重塑药物方案, 仍有很大比例心肌梗死患者会出现心脏重塑^[9]。肾素-血管紧张素-醛固酮系统抑制剂、 β 受体阻滞剂、盐皮质激素受体拮抗剂等是目前主要的抗心脏重塑药物^[8], 但它们的主要作用机制是抑制神经激素系统, 探索干预神经激素系统以外其他心脏重塑机制的药物是 AMI 后 HF 防治的新出路^[10]。

三七在我国作为保健膳食及防治药物具有悠久历史, 以三七及其提取物为组分的成药制剂广泛用于心血管疾病临床防治。三七皂苷 R₁ (notoginsenoside R₁, NGR1) 是从三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 主要提取物三七总皂

昔中分离出的重要活性化合物。近年来,一些基础研究揭示了 NGR1 在抗 MIRI 中的潜在作用,认为 NGR1 可减小 MIRI 诱导的模型动物梗死面积,改善心肌病理损伤、心肌纤维化及心功能,其作用机制主要与抑制细胞凋亡^[11-13]、线粒体损伤^[14-16]、炎症反应^[17]和氧化应激^[18]等有关。本课题组前期研究表明 NGR1 可通过 PINK1/Parkin 途径抑制线粒体自噬改善人心肌细胞缺氧/复氧损伤^[19]。此外,一些研究也显示 NGR1 具有抗心脏重塑潜力^[20]。一项研究显示 NGR1 可调控巨噬细胞极化以抑制小鼠 AMI 后心脏神经重塑^[21],另一项研究表明 NGR1 可阻止 β_2 AR 泛素化和降解改善 AMI 后 HF 模型小鼠的心功能和心室重塑^[22]。

综上,探索同具抗 MIRI 及心脏重塑的药物预防 AMI 指数住院后 HF 具有重要意义。既往研究表明 NGR1 具有多机制抗 MIRI 及心室重塑潜力。但尚缺乏研究探讨 NGR1 对 MIRI 后心脏重塑的作用及机制。故本研究通过结扎小鼠冠状动脉构建 MIRI 后心肌重塑动物模型,以观察 NGR1 对小鼠 MIRI 诱导的心脏重塑的作用并初步探讨其机制,以期为 NGR1 在 AMI 后 HF 防治中的潜在临床价值研究提供依据。

1 材料

1.1 动物

60 只 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠,6~8 周龄,体质量 24~26 g,购自贵州医科大学动物实验中心,动物生产许可证号 SCXK(贵)2023-0002。小鼠饲养于温度 22~25℃、相对湿度 50%~60%、12 h 明暗交替的环境中,自由进食饮水。动物实验方案经贵州医科大学实验动物管理与使用委员会审查通过(批准号 2000904)。

1.2 药品与试剂

NGR1(质量分数 $\geq 98\%$,批号 HY-N0615)购自美国 MCE 公司;改良 Masson 三色染色试剂盒(批号 G1346)、 Fe^{2+} 含量检测试剂盒(批号 BC5415)、脂质过氧化物(lipid peroxide, LPO)检测试剂盒(批号 BC5245)购自北京索莱宝科技有限公司;心房利钠肽(atrial natriuretic peptide, ANP)抗体(批号 27426-1-AP)、谷胱甘肽过氧化物酶 4(glutathione peroxidase 4, GPX4)抗体(批号 67763-1-Ig)、酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 4(acyl-CoA synthetase long-chain family member 4, ACSL4)抗体(批号 22401-1-AP)、collagen I 抗体(批号 14695-

1-AP)、collagen III 抗体(批号 22734-1-AP)、HRP 标记的山羊抗兔 IgG 抗体(批号 98136-1-RR)、HRP 标记的山羊抗鼠 IgG 抗体(批号 RGAM001)购自武汉三鹰生物技术有限公司;脑钠肽(brain natriuretic peptide, BNP)抗体(批号 DF6902)购自美国 Affinity 公司;转铁蛋白受体 1(transferrin receptor 1, TFR1)抗体(批号 BM4886)、溶质载体家族 7 成员 11(solute carrier family 7 member 11, SLC7A11)抗体(批号 BM5318)购自武汉博士德生物工程有限公司。

1.3 仪器

ZH-RG-4 型小动物呼吸机(原阳县振华教学仪器有限公司);BL-420F 型小动物心电图机(成都泰盟软件有限公司);DiM-8 型荧光显微镜(德国 Leica 公司);RS46Pro 型小动物气体麻醉机(深圳市瑞沃德生命科技股份有限公司);VINNO6 型小动物超声仪(苏州飞依诺科技股份有限公司);FS-1200N 型超声波破碎仪(上海生析超声仪器有限公司);Varioskan LUX3020 型多功能全波长酶标仪(美国 Thermo 公司);PowerPac Basic 型电泳仪、Universal hood 型 Chemi-DocTMXR+曝光仪(美国 Bio-Rad 公司);HT7800 型透射电子显微镜(日本 HITACHI 公司)。

2 方法

2.1 分组、造模与给药

60 只 C57BL/6J 小鼠随机分为假手术组、模型组和 NGR1 低、高剂量(12.5、25.0 mg/kg)^[12,22]组,每组 15 只。小鼠适应性喂养 1 周后,参照孙秀玉等^[23]方法造模。模型组和 NGR1 低、高剂量组小鼠麻醉后,心前区脱毛,气管插管后连接呼吸机,沿左第 3~4 肋间开胸,连接心电图机并记录肢导心电图。用 7-0 线带线缝合针于左心耳下 1~2 mm 处结扎左冠状动脉前降支,心电图 ST 段上抬及结扎处下方心肌变白为缺血成功。缺血 30 min 后松开结扎,心电图 ST 段回落及结扎部位下方心肌恢复红色为再灌注成功。假手术组小鼠只穿线不结扎冠脉。术后第 2 天开始,给药组小鼠 ip NGR1 溶液(10 mL/kg),假手术组和模型组小鼠 ip 等体积的生理盐水,1 次/d,连续注射 3 周。

2.2 小鼠心脏指数及心腔比测定

末次给药后,称定小鼠体质量并记录。在气体麻醉下开胸取心脏,预冷 PBS 冲洗后,用吸水纸充分吸干水分,称定心脏质量并记录。剥出小鼠右胫

骨后测量其长度。计算心脏指数和心脏比。

心脏指数=心脏质量/体质量

心脏比=心脏质量/胫骨长度

2.3 小麦胚芽凝集素 (wheat germ agglutinin, WGA) 染色检测心肌细胞横截面积

小鼠心脏经 4% 多聚甲醛固定 12 h, 梯度乙醇脱水及浸蜡, 石蜡包埋, 用石蜡切片机将心肌切为 5 μm 厚的薄片, 水中用载玻片捞片。梯度二甲苯脱蜡及梯度乙醇复水后, 0.1% Triton-100 孵育 10 min 以增加膜通透性, 滴加荧光标记的 WGA 染液于 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 20 min, PBS 洗涤 3 次后滴加 DAPI 染液 (1:500 稀释) 孵育 5~10 min 染核, 封片后于荧光显微镜下观察并拍照。采用 Image J 1.8.0 软件测量心肌细胞横截面积。

2.4 Masson 染色检查心肌纤维化面积

组织包埋切片同“2.3”项。按改良 Masson 三色染色试剂盒说明, 先后用天青石蓝染液、Mayer 苏木素染液、丽春红品红染液、苯胺蓝染液等浸染组织, 封片后于荧光显微镜下观察并拍照。采用 Image J 1.8.0 软件测量心脏胶原体积分数 (collagen volume fraction, CVF)。

$\text{CVF} = \text{胶原面积} / \text{心脏横截面积}$

2.5 小动物心脏超声仪检测小鼠心功能

各组小鼠末次给药后, 维持气体麻醉下, 采用小动物超声心动仪于左室胸骨旁短轴切面 M 模式下测量左室舒张末期容积 (left ventricular end-diastolic volume, LVEDV)、左室收缩末期容积 (left ventricular end-systolic volume, LVESV)、左室射血分数 (left ventricular ejection fraction, LVEF)、左室短轴缩短率 (left ventricular fractional shortening, LVFS)。

2.6 网络药理学分析

以“notoginsenoside R_1 ”为检索词在公共数据库 PharmMapper、CTD、TCMSP、BATMAN、ChEMBL、ETCM 中搜集 NGR1 的作用靶点。在公共数据库 GeneCard、OMIM、TTD 中输入“myocardial ischemia reperfusion injury”检索 MIRI 作用靶点。导入 Venny 2.2.0 在线网站, 获得 NGR1 与 MIRI 的交集靶点。在 Metascape 网站中提交交集靶点, 进行基因本体 (gene ontology, GO) 生物功能富集分析。以 $-\lg P$ 值为显著性指标, 取显著性排名前 10 的条目于微生信平台绘制 GO 分析的柱状图。

2.7 心肌组织 Fe^{2+} 及 LPO 含量的检测

称取适量新鲜心肌组织, 按 Fe^{2+} 含量检测试剂盒和 LPO 含量检测试剂盒说明书处理组织, 检测 Fe^{2+} 及 LPO 含量。

2.8 Western blotting 检测心肌组织中 ANP、BNP、collagen I、collagen III、TFR1、ACSL4、SLC7A11、GPX4 蛋白表达

称取适量新鲜心肌组织, 加入细胞裂解液 (RIPA 裂解液: 蛋白酶抑制剂 PMSF=100:1) 并剪碎组织, 超声波破碎仪破碎细胞, 4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min 离心 10 min 后取上清。据 BCA 蛋白定量试剂盒说明书测定蛋白浓度。蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜, 于 5% 脱脂牛奶中封闭 1 h, 分别加入 ANP (1:2 000)、BNP (1:2 000)、collagen I (1:1 000)、collagen III (1:1 000)、TFR1 (1:1 000)、SLC7A11 (1:1 000)、GPX4 (1:2 000)、ACSL4 (1:5 000) 抗体, 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜; 加入 HRP 标记的山羊抗鼠/兔 IgG 抗体 (1:10 000), 室温孵育 1.5 h。加入 ECL 化学发光液, 孵育后采用曝光仪显影, 采用 Image J 1.8.0 软件分析条带灰度值。

2.9 透射电子显微镜观察心肌线粒体形态学改变

取小鼠心脏后, 预冷 PBS 冲洗, 于结扎部位稍下方切取约 1 mm^3 的心肌组织, 电镜固定液固定组织, 脱水, 包埋, 切 70 nm 的组织薄片, 染色, 采用生物透射电镜观察线粒体形态。

2.10 统计学分析

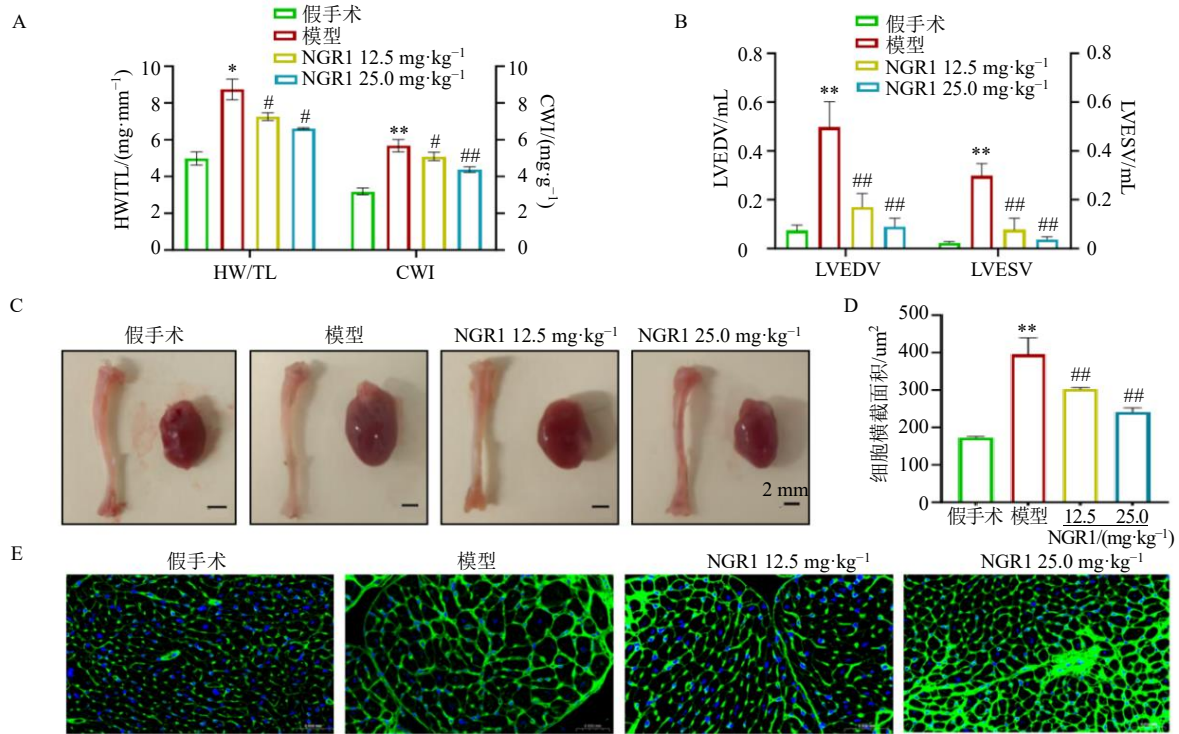
所有数据均采用 GraphPad Prism 10.0 软件进行统计分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 NGR1 对 MIRI 小鼠心脏重塑的影响

3.1.1 NGR1 对小鼠 MIRI 后心脏肥大及心肌细胞肥大的影响 如图 1 所示, 与假手术组比较, 模型组小鼠心脏指数、心脏比、LVEDV、LVESV 和细胞横截面积均显著增加 ($P < 0.05, 0.01$); 与模型组比较, NGR1 各剂量组小鼠心脏指数、心脏比、LVEDV、LVESV 和细胞横截面积均显著降低 ($P < 0.05, 0.01$)。

3.1.2 NGR1 对小鼠 MIRI 后心肌纤维化的影响 如图 2 所示, 与假手术组比较, 模型组小鼠 CFV 及心肌组织 collagen I、collagen III 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, NGR1 高剂量组

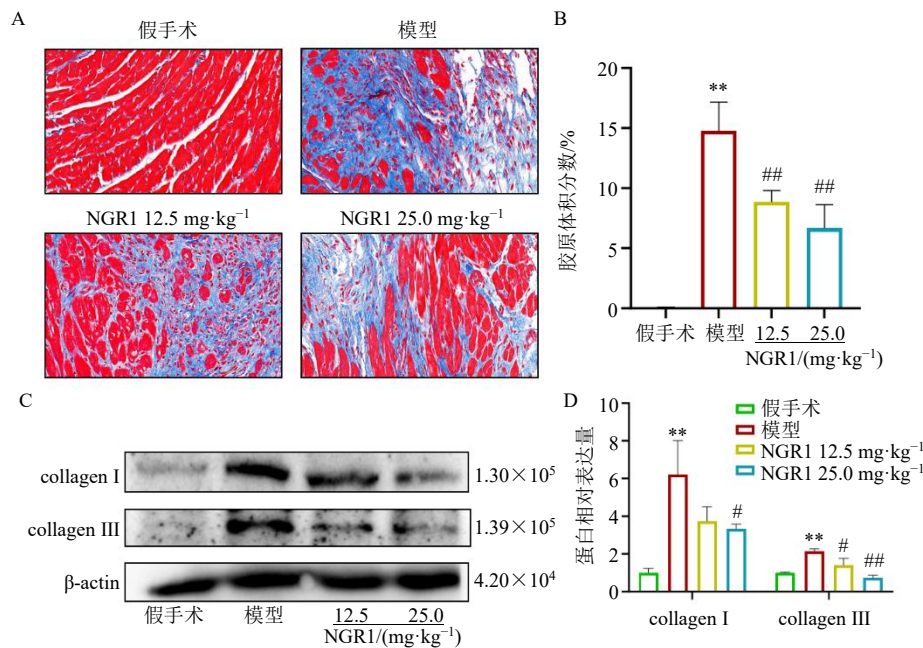


A-心脏指数和心经比; B-LVEDV 和 LVESV; C-心脏与胫骨代表图; D、E-WGA 染色检测心肌细胞横截面积 (×630); 与假手术组比较: **P*<0.05 ***P*<0.01; 与模型组比较: #*P*<0.05 ##*P*<0.01, 下图同。

A-cardiac index and heart weight/tibia length; B-LVEDV and LVESV; C-heart and tibia representative images; D, E-myocardial cell cross-sectional area detected by WGA staining (×630); **P*<0.05 ***P*<0.01 vs sham group; #*P*<0.05 ##*P*<0.01 vs model group, same as below figures.

图 1 NGR1 对小鼠 MIRI 后心脏肥大和心肌细胞肥大的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 1 Effect of NGR1 on cardiac hypertrophy and cardiomyocyte hypertrophy in mice after MIRI ($\bar{x} \pm s, n = 5$)



A、B-Masson 染色检测心肌纤维化面积 (×630); C、D-Western blotting 检测心肌组织 collagen I 及 collagen III 的蛋白表达。

A, B-area of myocardial fibrosis detected by Masson staining (×630); C, D-protein expressions of collagen I and collagen III in myocardial tissue detected by Western blotting.

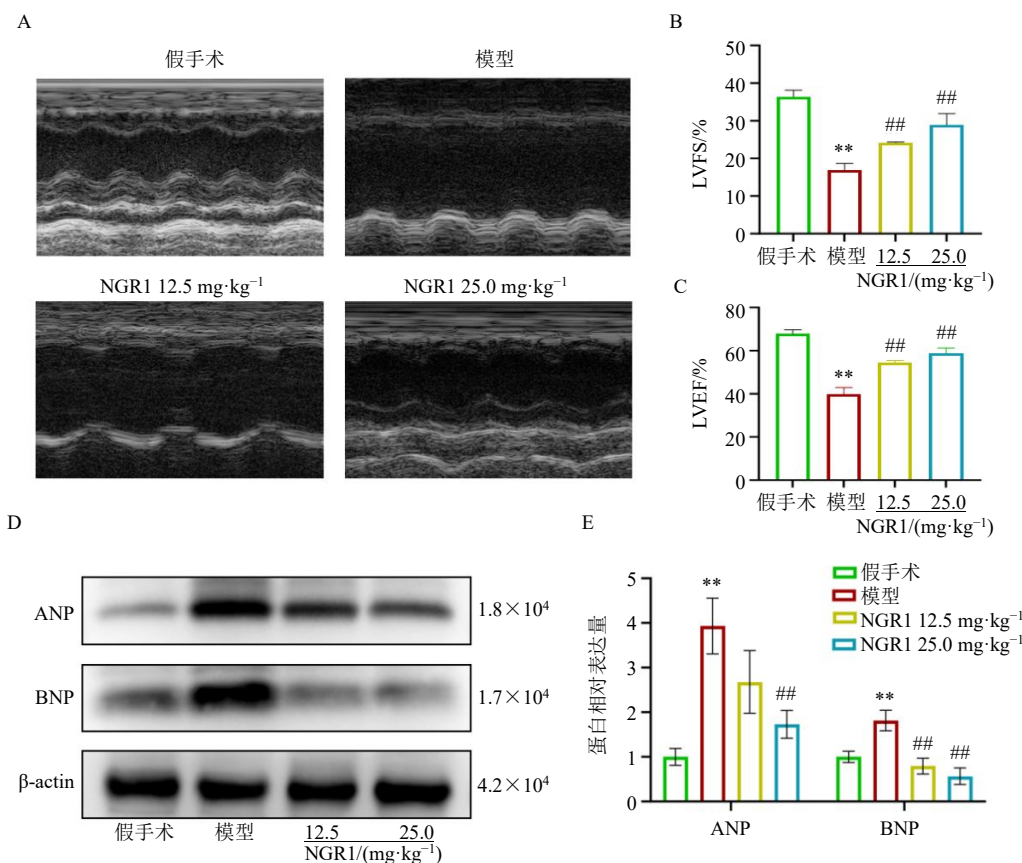
图 2 NGR1 对小鼠 MIRI 后心肌纤维化的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 2 Effect of NGR1 on myocardial fibrosis in mice after MIRI ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

小鼠 CVF 及心肌组织 collagen I、collagen III 蛋白表达水平均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)，NGR1 低剂量组小鼠 CVF 及心肌组织 collagen I 蛋白表达水平均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

3.1.3 NGR1 对 MIRI 小鼠心功能的影响 如图 3 所示，与假手术组比较，模型组小鼠 LVEF 和 LVFS

均显著降低 ($P < 0.01$)，心肌组织 ANP 和 BNP 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，NGR1 高剂量组 LVEF 和 LVFS 显著升高 ($P < 0.01$)，心肌组织 ANP 和 BNP 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.01$)；NGR1 低剂量组 LVEF 和 LVFS 显著升高 ($P < 0.01$)，BNP 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.01$)。



A-小鼠心脏彩超图；B、C-LVEF 和 LVFS；D、E-Western blotting 检测心肌组织 ANP 及 BNP 的蛋白表达。

A-cardiac ultrasound image of mice; B, C-LVEF and LVFS; D, E-protein expressions of ANP and BNP in myocardial tissue detected by Western blotting.

图 3 NGR1 对 MIRI 小鼠心功能的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

Fig. 3 Effect of NGR1 on cardiac function in MIRI mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

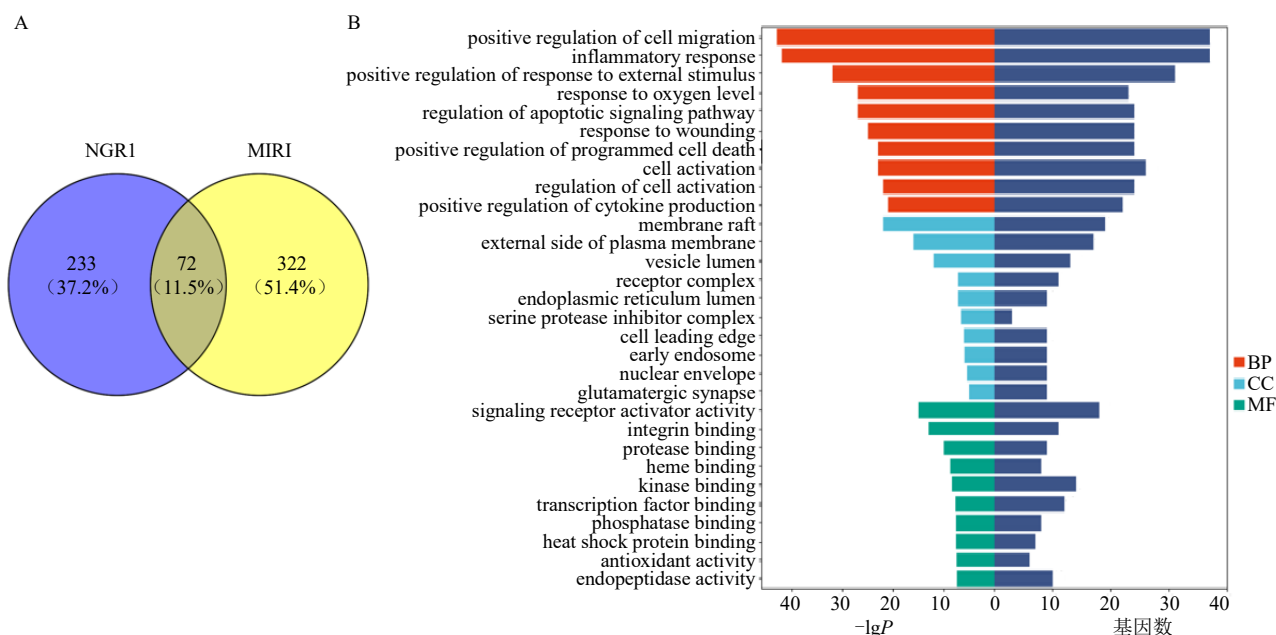
3.2 NGR1 对 MIRI 小鼠心肌细胞铁死亡的影响

3.2.1 基于网络药理学探讨 NGR1 改善小鼠 MIRI 后心脏重塑的可能机制 在公共数据库中检索 NGR1 的靶点，PharmMapper 中检索到 69 个，CTD 中检索到 91 个，TCMSP 中检索到 1 个，BATMAN 中检索到 1 个，ChEMBL 中检索到 20 个，ETCM 中检索到 18 个，汇总并去重后共计 305 个靶点。公共数据库中检索 MIRI 靶点，GeneCard 中检索到 350 个，OMIM 中检索到 56 个，TTD 中检索到 1 个，汇总并去重后得 394 个靶点。在 Venny 2.1.0 在线网站中获得 NGR1 与 MIRI 的交集靶点 72 个 (图 4-A)。对交集靶点进行 GO 分析 (图 4-B)，在 GO 分析的

生物过程 (biological process, BP) 条目中显著性靠前的有正向调控程序性细胞死亡，表明 NGR1 抑制 MIRI 后心脏重塑作用可能与细胞程序性死亡有关。

3.2.2 NGR1 对 MIRI 小鼠心肌组织铁离子蓄积的影响 如图 5-A、C、D 所示，与假手术组比较，模型组小鼠心肌组织 Fe²⁺ 含量和 TFR1 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01)；与模型组比较，NGR1 高剂量组小鼠心肌组织 Fe²⁺ 含量和 TFR1 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.01$)，NGR1 低剂量组心肌组织 Fe²⁺ 含量显著降低 ($P < 0.01$)。

3.2.3 NGR1 对 MIRI 小鼠心肌组织脂质过氧化水平的影响 如图 5-B~D 所示，与假手术组比较，

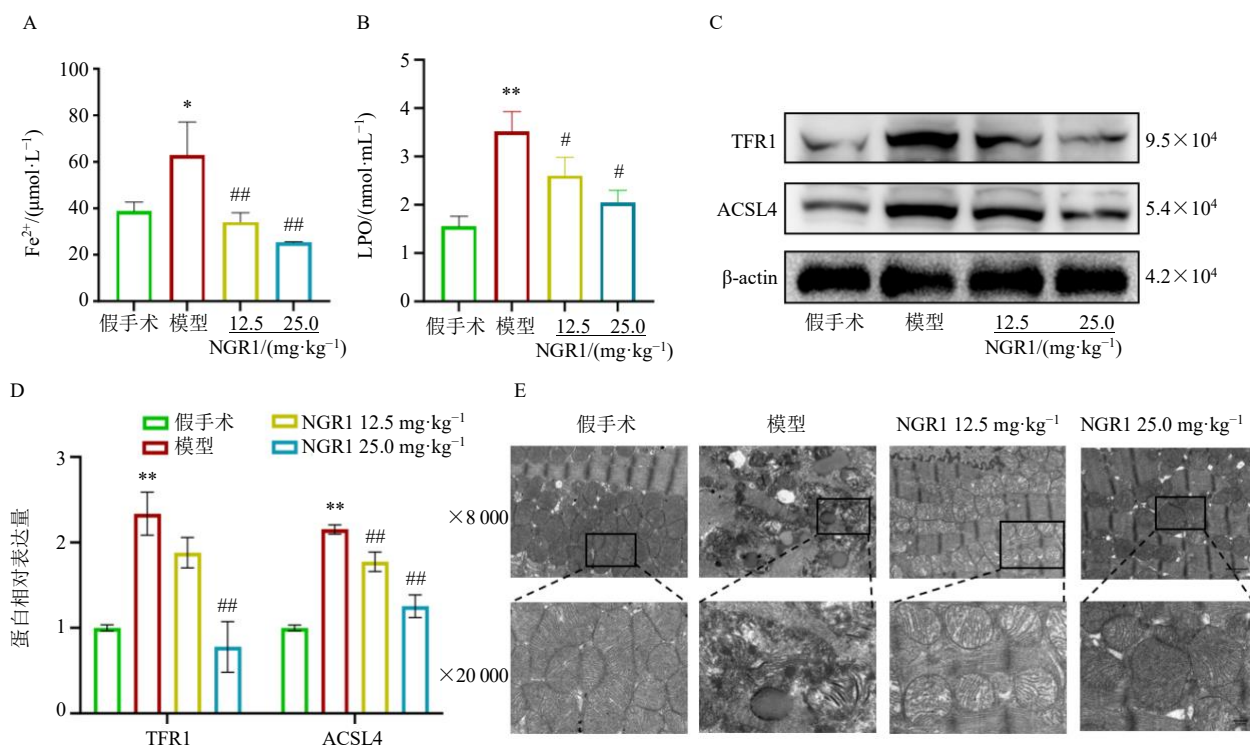


A-NGR1 与 MIRI 交集靶点的 Venn 图; B-GO 富集分析柱状图, BP-生物过程, CC-细胞组分, MF-分子功能。

A-Venn diagram of intersection targets of NGR1 and MIRI; B-GO enrichment analysis bar chart, BP-biological process, CC-cellular component, MF-molecular function.

图 4 NGR1 与 MIRI 交集靶点的 GO 富集分析

Fig. 4 GO analysis of intersection targets of NGR1 and MIRI



A-Fe²⁺含量; B-LPO 含量; C、D-Western blotting 检测心肌组织 TFR1 和 ACSL4 蛋白表达; E-心肌组织线粒体透射电镜图。

A-Fe²⁺ content; B-LPO content; C, D-protein expressions of TFR1 and ACSL4 in myocardial tissue detected by Western blotting; E-mitochondrial transmission electron microscope images of myocardial tissue.

图 5 NGR1 对小鼠 MIRI 后心肌细胞铁死亡影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 5 Effect of NGR1 on ferroptosis of myocardial cells in mice after MIRI ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

模型组小鼠心肌组织 LPO 含量和 ACSL4 蛋白表达水平显著升高 ($P<0.01$); 与模型组比较, NGR1 各剂量组小鼠心肌组织 LPO 含量和 ACSL4 蛋白表达水平均显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01)。

3.2.4 NGR1 对小鼠 MIRI 后心肌细胞线粒体损伤的影响 如图 5-E 所示, 与假手术组比较, 模型组小鼠心肌线粒体结构遭到严重破坏, 表现为线粒体数量减少, 线粒体膜破裂, 线粒体嵴数量减少, 残存的嵴断裂及密度增加; 与模型组比较, NGR1 各

剂量组线粒体损伤明显改善。

3.3 NGR1 对小鼠 MIRI 后心肌组织 SLC7A11/GPX4 信号通路相关蛋白表达的影响

如图 6 所示, 与假手术组比较, 模型组小鼠心肌组织 SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达水平显著降低 ($P<0.01$); 与模型组比较, NGR1 高剂量组小鼠心肌组织 SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达水平显著升高 ($P<0.01$), NGR1 低剂量组 SLC7A11 蛋白表达水平显著升高 ($P<0.05$)。

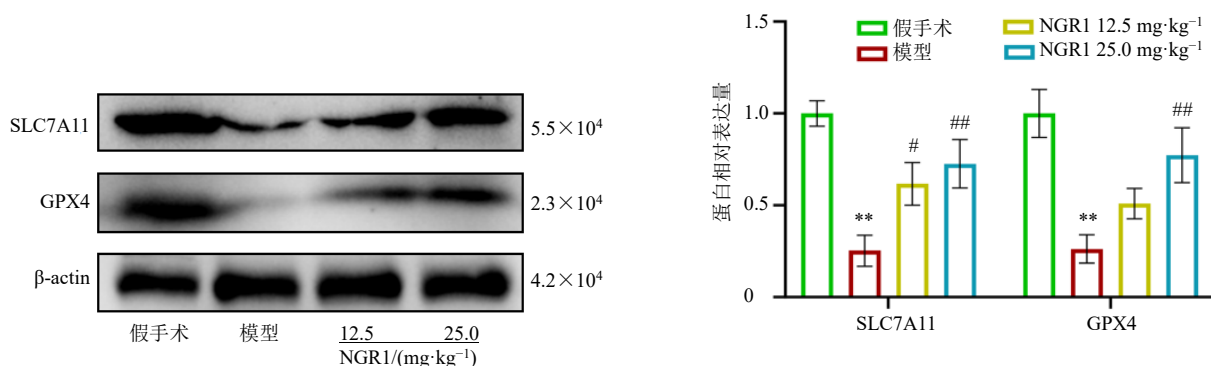


图 6 NGR1 对小鼠 MIRI 后心肌组织 SLC7A11/GPX4 信号通路相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Fig. 6 Effect of NGR1 on SLC7A11/GPX4 signaling pathway-related protein expressions in myocardial tissue of mice after MIRI ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

4 讨论

MIRI 后心脏重塑是心肌在经历缺血和再灌注损伤后, 由氧化应激、免疫炎症、神经激素系统激活和心肌纤维化等多种复杂病理过程相互作用引起的心脏形态和功能变化^[4,8]。主要分为 2 个重塑阶段, 早期梗死区心肌被纤维化瘢痕取代和晚期非梗死区心肌间质纤维化, 导致梗死部位心室壁变薄和非梗死区心肌肥厚变硬, 最终引起心脏增大、弹性减弱和心功能下降^[8]。该适应性重塑一旦失代偿便引发 HF。因此, 预防 MIRI 后心脏重塑是当下再灌注时代 AMI 依赖性 HF 防治的工作重心。本研究结果显示, 与假手术组比较, 模型组小鼠心脏指数、心腔比、LVEDV、LVESV、心肌细胞横截面积、CVF 和心肌组织 collagen I 及 collagen III 蛋白表达水平显著增加, 而 LVEF、LVFS 和心肌组织 ANP 及 BNP 蛋白表达水平显著降低, 表明 MIRI 后心脏重塑小鼠模型构建成功; 与模型组比较, NGR1 给药组上述心脏重塑、心肌纤维化和心功能指标发生逆转, 且呈剂量相关性, 表明 NGR1 改善了小鼠 MIRI 后心室重塑及心功能。本结果与既往 NGR1 改善缺血性心肌病模型小鼠心脏重塑和心功能的研究结论

一致^[22]。

程序性细胞死亡是基因调控的有序细胞死亡。MIRI^[24]和随后的炎症反应^[25]、心肌纤维化^[26]等过程均伴随着细胞死亡, 表明程序性细胞死亡在 MIRI 后心脏重塑中扮演重要角色。本研究中网络药理学结果提示程序性细胞死亡可能是 NGR1 抑制 MIRI 后心脏重塑的可能机制。当前认为多种程序性细胞死亡 (如铁死亡、凋亡、自噬、焦亡等) 均参与 MIRI^[24], 而只有铁死亡主要发生在 MIRI 后长期再灌注过程中^[27], 表明铁死亡可能是 MIRI 后心脏重塑中主要的程序性细胞死亡。近年来, 一些研究也表明铁死亡参与 AMI 后左心室重塑过程^[28]。因此, 本研究探索了 NGR1 对 MIRI 后心脏重塑小鼠模型中铁死亡的影响, 结果显示 NGR1 缓解了模型组小鼠心肌细胞铁蓄积、脂质过氧化和铁死亡相关线粒体损伤, 表明 NGR1 改善了 MIRI 后心脏重塑中发生的铁死亡。此前, 有研究显示 NGR1 可调控脑缺血再灌注损伤^[29]、高原心肌损伤^[30]及动脉粥样硬化^[31]实验模型中的铁死亡, 该结论与本研究 NGR1 可调控铁死亡的结论一致。

铁死亡机制复杂, 目前认为与氨基酸、铁和脂质

代谢有关,其伴随大量毒性脂质氢过氧化物积累^[32]。SLC7A11/GPX4 通路参与铁死亡中氨基酸代谢,在清除脂质氢过氧化物中发挥重要作用。SLC7A11 是谷氨酸/胱氨酸反转运体的一个亚基,其将谷氨酸转出胞外同时将等量胞外胱氨酸转运至胞内,进入胞内的胱氨酸代谢为半胱氨酸,其作为底物产生谷胱甘肽 (glutathione, GSH) ^[28,32]。GPX4 是一种抗氧化酶,其在 GSH 被氧化为谷胱甘肽二硫化物过程中获得电子从而被激活,活化的 GPX4 将有氧的脂质氢过氧化物转化为无毒的脂质醇^[28,32]。SLC7A11/GPX4 通路在铁死亡中下调,激活该通路可抑制细胞铁死亡^[28,32]。有研究显示激活 SLC7A11 和 GPX4 可改善 MIRI 和心脏重塑^[28,32-34],而 NGR1 可调控 SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达^[35],因此观察了 NGR1 对 MIRI 后心脏重塑小鼠模型中 SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达的影响。结果显示 NGR1 逆转了模型诱导的 SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达的下降,表明调控 SLC7A11/GPX4 通路抑制铁死亡可能是 NGR1 抗 MIRI 后心脏重塑的机制。既往研究显示 NGR1 可调控核转录因子 E2 相关因子 (nuclear factor E2-related factor 2, Nrf2) 抑制铁死亡^[29-31],而 Nrf2 可与 SLC7A11 及 GPX4 启动子结合调控其转录^[36-37],因此 Nrf2 是否作为桥梁靶点参与本研究中 NGR1 对 SLC7A11/GPX4 通路的调控有待进一步研究。

既往研究表明 NGR1 可调控多种机制改善 MIRI^[11-18],可阻止 β_2 AR 泛素化降解改善 AMI 后 HF 模型小鼠的心室重塑和心功能^[22]。本研究表明 NGR1 可改善小鼠 MIRI 后心脏重塑,其机制可能与上调 SLC7A11/GPX4 通路抑制铁死亡有关。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 国家心血管病中心. 中国心血管健康与疾病报告 2021 [M]. 北京: 科学出版社, 2022: 213-214.
- [2] Savarese G, Becher P M, Lund L H, *et al.* Global burden of heart failure: A comprehensive and updated review of epidemiology [J]. *Cardiovasc Res*, 2023, 118(17): 3272-3287.
- [3] Butler J, Hammonds K, Talha K M, *et al.* Incident heart failure and recurrent coronary events following acute myocardial infarction [J]. *Eur Heart J*, 2025, 46(16): 1540-1550.
- [4] Akhtar K H, Khan M S, Baron S J, *et al.* The spectrum of post-myocardial infarction care: From acute ischemia to heart failure [J]. *Prog Cardiovasc Dis*, 2024, 82: 15-25.
- [5] Carberry J, Marquis-Gravel G, O'Meara E, *et al.* Where are we with treatment and prevention of heart failure in patients post-myocardial infarction? [J]. *JACC Heart Fail*, 2024, 12(7): 1157-1165.
- [6] Martin J. Persistent mortality and heart failure burden of anterior ST-segment elevation myocardial infarction following primary percutaneous coronary intervention: Real-world evidence from the US Medicare Data Set [J]. *BMJ Open*, 2023, 13(6): e070210.
- [7] Jiang H Y, Fang T T, Cheng Z Y. Mechanism of heart failure after myocardial infarction [J]. *J Int Med Res*, 2023, 51(10): 3000605231202573.
- [8] Leancă S A, Crișu D, Petriș A O, *et al.* Left ventricular remodeling after myocardial infarction: From physiopathology to treatment [J]. *Life*, 2022, 12(8): 1111.
- [9] van der Bijl P, Abou R, Goedemans L, *et al.* Left ventricular post-infarct remodeling: Implications for systolic function improvement and outcomes in the modern era [J]. *JACC Heart Fail*, 2020, 8(2): 131-140.
- [10] Udell J A, Cecilia Bahit M, Campbell P, *et al.* Prevention of heart failure after acute myocardial infarction [J]. *Lancet*, 2025, 406(10508): 1154-1170.
- [11] Sun R, Huang W Y, Guo Z Y, *et al.* Notoginsenoside R₁ ameliorates myocardial ischemia/reperfusion injury by suppressing apoptosis via activating Wnt/ β -catenin signaling [J]. *Am J Chin Med*, 2025, 53(7): 2223-2243.
- [12] Zeng J J, Shi H Q, Ren F F, *et al.* Notoginsenoside R₁ protects against myocardial ischemia/reperfusion injury in mice via suppressing TAK1-JNK/p38 signaling [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2023, 44(7): 1366-1379.
- [13] Li G, Xing X Y, Luo Y, *et al.* Notoginsenoside R₁ prevents H9c2 cardiomyocytes apoptosis against hypoxia/reoxygenation via the ERs/PI3K/Akt pathway [J]. *RSC Adv*, 2018, 8(25): 13871-13878.
- [14] Xu Y B, Wang P, Hu T, *et al.* Notoginsenoside R₁ attenuates H/R injury in H9c2 cells by maintaining mitochondrial homeostasis [J]. *Curr Issues Mol Biol*, 2025, 47(1): 44.
- [15] Xia K P, Ca H M, Shao C Z. Protective effect of notoginsenoside R₁ in a rat model of myocardial ischemia reperfusion injury by regulation of Vitamin D₃ upregulated protein 1/NF- κ B pathway [J]. *Pharmazie*, 2015, 70(11): 740-744.
- [16] He K, Yan L, Pan C S, *et al.* ROCK-dependent ATP5D modulation contributes to the protection of notoginsenoside NR₁ against ischemia-reperfusion-induced myocardial injury [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2014, 307(12): H1764-H1776.

- [17] 周伟, 刘志刚. 三七皂苷 R₁ 预处理对心肌缺血再灌注损伤大鼠的保护作用及相关机制研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2019, 35(20): 2589-2592.
- [18] Yu Y L, Sun G B, Luo Y, *et al.* Cardioprotective effects of notoginsenoside R₁ against ischemia/reperfusion injuries by regulating oxidative stress- and endoplasmic reticulum stress-related signaling pathways [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 21730.
- [19] 熊晓满, 吴欢, 卢尚林, 等. 三七皂苷 R₁ 通过 PINK1/Parkin 途径调控缺氧/复氧后人心肌细胞线粒体自噬的作用 [J/OL]. 安徽医科大学学报, (2025-10-13) [2025-11-06]. <https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20251011.1707.010>.
- [20] 陈卓彬. 三七皂苷 R₁ 防治心血管疾病的研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2023, 38(4): 1003-1007.
- [21] 陈卓彬, 吴丰华, 尤行宏, 等. 三七皂苷 R₁ 对急性心肌梗死后心脏神经重塑的影响及机制 [J]. 湖北中医药大学学报, 2023, 25(6): 5-9.
- [22] Chen Q, Huang Z W, Chen J, *et al.* Notoginsenoside R₁ attenuates ischemic heart failure by modulating MDM2/β-arrestin2-mediated β₂-adrenergic receptor ubiquitination [J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 177: 117004.
- [23] 孙秀玉, 徐俊, 吴宥熹, 等. 基于线粒体质量控制的苈草苷抗心肌缺血/再灌注损伤的机制研究 [J]. 中草药, 2018, 49(18): 4337-4343.
- [24] Du B X, Fu Q, Yang Q, *et al.* Different types of cell death and their interactions in myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. *Cell Death Discov*, 2025, 11(1): 87.
- [25] Francisco J, Del Re D P. Inflammation in myocardial ischemia/reperfusion injury: Underlying mechanisms and therapeutic potential [J]. *Antioxidants*, 2023, 12(11): 1944.
- [26] Piek A, de Boer R A, Silljé H W. The fibrosis-cell death axis in heart failure [J]. *Heart Fail Rev*, 2016, 21(2): 199-211.
- [27] Cai W B, Liu L, Shi X L, *et al.* Alox15/15-HpETE aggravates myocardial ischemia-reperfusion injury by promoting cardiomyocyte ferroptosis [J]. *Circulation*, 2023, 147(19): 1444-1460.
- [28] Komai K, Kawasaki N K, Higa J K, *et al.* The role of ferroptosis in adverse left ventricular remodeling following acute myocardial infarction [J]. *Cells*, 2022, 11(9): 1399.
- [29] Wang L L, Kang M L, Liu C W, *et al.* *Panax notoginseng* saponins activate nuclear factor erythroid 2-related factor 2 to inhibit ferroptosis and attenuate inflammatory injury in cerebral ischemia-reperfusion [J]. *Am J Chin Med*, 2024, 52(3): 821-839.
- [30] Wang Y L, Yin Y J, Liu Y, *et al.* Notoginsenoside R₁ treatment facilitated Nrf2 nuclear translocation to suppress ferroptosis via Keap1/Nrf2 signaling pathway to alleviate high-altitude myocardial injury [J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 175: 116793.
- [31] 张梦, 萧闵, 蔡婷, 等. 三七皂苷 R₁ 调控 Nrf2 介导的铁死亡途径改善 ApoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化 [J]. 中草药, 2024, 55(15): 5135-5144.
- [32] Zhang C H, Yan Y J, Luo Q. The molecular mechanisms and potential drug targets of ferroptosis in myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. *Life Sci*, 2024, 340: 122439.
- [33] 邓淇楷, 苏利叶, 林锡洋, 等. SLC7A11 在心肌纤维化中的作用 [J]. 吉林医学, 2025, 46(5): 1173-1180.
- [34] Li Z B, Zhu Z G, Liu Y L, *et al.* Function and regulation of GPX4 in the development and progression of fibrotic disease [J]. *J Cell Physiol*, 2022, 237(7): 2808-2824.
- [35] 裴彩霞, 刘俊伶, 贾楠, 等. 基于 Nrf2/HO-1/GPX4 信号通路探讨三七皂苷 R₁ 对低压缺氧诱导的高原肺水肿的保护作用 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2024, 26(12): 3209-3217.
- [36] Luo X, Wang Y H, Zhu X X, *et al.* MCL attenuates atherosclerosis by suppressing macrophage ferroptosis via targeting KEAP1/NRF2 interaction [J]. *Redox Biol*, 2024, 69: 102987.
- [37] Chen J T, He Y J, Chen R, *et al.* SLC7A11 in fibrosis: Molecular mechanisms and future prospects [J]. *Aging Dis*, 2025, doi: 10.14336/AD.2025.0106.

[责任编辑 李亚楠]