

基于cGAS-STING信号通路探讨环黄芪醇干预心肌梗死后心力衰竭的作用机制

马欢¹ 魏东升² 张妮² 闫瑾² 王琳^{1*}

(¹中国医科大学附属第四医院体检中心, 沈阳 110032; ²辽宁中医药大学第一临床学院, 沈阳 110032)

摘要 为探讨环黄芪醇(CAG)对心力衰竭(HF)进程的影响及相关机制, 该研究采用左前降支结扎术构建小鼠HF模型并给予不同剂量CAG干预, 通过体质量监测、心脏超声、血清生化检测、HE/Masson/天狼星红染色、WGA染色、TUNEL及ROS检测系统, 综合评估小鼠心功能、心肌损伤、心肌结构重构及心肌细胞凋亡情况; 同时检测血清及心肌组织中IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等炎症因子表达水平, 结合Western blot与实时定量PCR技术, 分析cGAS-STING信号通路关键蛋白及纤维化相关基因的表达变化。结果显示, CAG干预可显著改善HF小鼠体质量下降趋势, 提升心脏泵血功能, 降低血清NT-proBNP、CKMB及cTnI水平, 有效减轻心肌组织炎症反应、氧化应激损伤及心肌细胞凋亡, 同时抑制心肌病理性肥大与纤维化形成; 进一步机制研究表明, CAG能以剂量依赖性方式下调心肌组织中cGAS、STING、p-TBK1、p-IRF3等信号通路关键蛋白的表达, 同时显著降低IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等炎症因子的分泌水平。综上, CAG可通过抑制cGAS-STING信号通路的异常激活, 发挥抗炎、抗凋亡、抗纤维化及改善心功能的多重保护作用, 为天然产物干预免疫相关性心力衰竭提供了新的理论依据与潜在治疗策略。

关键词 环黄芪醇; cGAS-STING通路; 心力衰竭; 炎症; 纤维化

Mechanistic Investigation of Cycloastragenol in Alleviating Post-Myocardial Infarction Heart Failure via the cGAS-STING Signaling Pathway

MA Huan¹, WEI Dongsheng², ZHANG Ni², YAN Jin², WANG Lin^{1*}

(¹Physical Examination Center, Fourth Hospital of China Medical University, Shenyang 110032, China;

²First Clinical College of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032, China)

Abstract To investigate the effects of CAG (cycloastragenol) on the progression of HF (heart failure) and its underlying mechanisms, this study established a mouse HF model by ligating the left anterior descending coronary artery and administered different doses of CAG for intervention. A comprehensive assessment was conducted, including body mass monitoring, echocardiography, serum biochemical tests, HE (hematoxylin and eosin)/Masson/Sirius red staining, WGA (wheat germ agglutinin) staining, TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick-end labeling) assay, and ROS (reactive oxygen species) detection, to evaluate cardiac function, myocardial injury, myocardial structural remodeling, and cardiomyocyte apoptosis. The expression levels of inflammatory factors such as IL-1 β , IL-6, and TNF- α in serum and myocardial tissues were measured. Combined with Western blot and RT-qPCR (real-time quantitative polymerase chain reaction), the expression changes of key

收稿日期: 2025-11-07 接受日期: 2025-12-25

国家自然科学基金(批准号: 82104841)资助的课题

*通信作者。Tel: 18900912856, E-mail: marialin@126.com

Received: November 7, 2025

Accepted: December 25, 2025

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.82104841)

*Corresponding author. Tel: +86-18900912856, E-mail: marialin@126.com

proteins in the cGAS (cyclic GMP-AMP synthase)-STING (stimulator of interferon genes) signaling pathway and fibrosis-related genes were analyzed. The results showed that CAG intervention significantly ameliorated the mass loss trend in HF mice, improved cardiac pumping function, reduced serum levels of NT-proBNP (N-terminal pro-B-type natriuretic peptide), CKMB (creatin kinase-MB), and cTnI (cardiac troponin I), effectively alleviated myocardial inflammatory response, oxidative stress injury, and cardiomyocyte apoptosis, while simultaneously inhibiting pathological myocardial hypertrophy and fibrosis formation. Further mechanistic studies indicated that CAG down-regulated the expression of key pathway proteins, including cGAS, STING, p-TBK1 (phosphorylated TANK-binding kinase 1), and p-IRF3 (phosphorylated interferon regulatory factor 3), in myocardial tissue in a dose-dependent manner, and significantly reduced the secretion levels of inflammatory factors such as IL-1 β , IL-6, and TNF- α . In conclusion, CAG exerts multiple protective effects, including anti-inflammatory, anti-apoptotic, anti-fibrotic actions, and improvement of cardiac function, by inhibiting the abnormal activation of the cGAS-STING signaling pathway. This study provides new theoretical evidence and a potential therapeutic strategy for natural product intervention in immune-related heart failure.

Keywords cycloastragenol; cGAS-STING pathway; heart failure; inflammation; fibrosis

心力衰竭(heart failure, HF)是多种心血管疾病发展的终末阶段,具有发病率高、病死率高、复发率高的疾病特征^[1]。随着人口老龄化的加剧, HF的发病率逐年上升,其已成为严重威胁人类健康的主要疾病之一,给社会和经济带来了沉重的负担。当前, HF的治疗主要依赖于利尿剂、 β 受体阻滞剂,以及肾素-血管紧张素-醛固酮系统抑制剂等药物,这些治疗方法可以在一定程度上缓解症状并延缓病情进展。然而,对于由慢性心肌损伤引发的持续性炎症反应及心肌重构问题,目前仍然缺乏有效的干预措施^[2]。因此,深入揭示HF发生发展的炎症机制,探索具有免疫调节作用的干预策略,是当前HF防治研究的重要方向。

近年来,随着心血管疾病免疫机制研究的不断深入,先天免疫系统在HF发生发展中的重要作用已逐渐被揭示^[3-4]。其中,环磷酸GMP-AMP合酶(cyclic GMP-AMP synthase, cGAS)-STING(stimulator of interferon genes)信号通路作为细胞识别胞质DNA的关键通路,已逐渐成为心血管疾病研究的热点。该通路通过cGAS识别外源性或内源性DNA,产生第二信使cGAMP,激活刺激干扰素基因蛋白(stimulator of interferon genes, STING),并进一步启动下游的TBK1/IRF3信号转导,诱导炎症因子和干扰素等的表达,进而引发广泛的炎症反应^[5-6]。多项研究表明,cGAS-STING信号通路在心肌缺血、压力超载等应激状态下显著激活,其异常活化可促进心肌细胞凋亡、成纤维细胞增殖和心肌纤维化,最终加重心衰程度,提示该

通路在HF进展中具有重要病理作用^[7-9]。因此,抑制cGAS-STING通路的异常激活,可能成为干预HF炎症反应的新型治疗策略。

中医药在防治心血管疾病中具有独特优势,其中活性成分的现代药理机制研究受到广泛关注。环黄芪醇(cycloastragenol, CAG)是黄芪中具有代表性的单体成分,属于三萜类化合物,已被证实具有抗炎、抗氧化、延缓衰老、保护心脑血管等多重生物活性^[10-11]。然而,目前尚无研究系统阐述CAG是否可通过调控cGAS-STING信号通路干预HF的炎症反应机制,其在先天免疫水平的作用模式亦缺乏明确证据。

本研究拟以HF小鼠模型为基础,系统评价CAG对心功能、心肌组织病理变化及炎症因子表达的影响,并聚焦cGAS-STING信号通路关键蛋白的表达变化,探讨其潜在的调控机制,丰富了中药干预HF的理论体系,也为天然产物在免疫炎症性心血管疾病中的开发与应用提供了新思路。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF级C57BL/6雄性小鼠,6~8周龄,体重为18~20 g,购自辽宁长生生物科技有限公司,动物许可证号SCXK(辽)2020-0001,饲养于辽宁中医药大学SPF级动物房。本研究获得辽宁中医药大学动物伦理委员会的批准(伦理编号:21000062024104)。

1.2 药品和试剂

CAG(HPLC纯度 $\geq 98\%$, 货号: 722969503545)购自上海远实科技有限公司。白细胞介素-1 β (interleukin-1 beta, IL-1 β)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor-alpha, TNF- α)、N末端B型钠尿肽原(N-terminal pro-B type natriuretic peptide, NT-proBNP)、肌酸激酶同工酶(creatine kinase-MB, CKMB)、心肌肌钙蛋白I(cardiac troponin I, cTnI) ELISA试剂盒(货号: ml106733、ml063159、ml002095、ml324452、ml107303、ml300791)购自上海酶联生物技术有限公司。苏木精-伊红(hematoxylin and eosin, HE)染色、Masson、天狼星红、末端脱氧核苷酸转移酶介导的dUTP缺口末端标记法(terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick-end labeling, TUNEL)染色试剂盒(货号: G1120、G1340、G1472、T2196)购自北京索莱宝科技有限公司。活性氧(reactive oxygen species, ROS)染色试剂盒(货号: 50102ES02)购自翌圣生物科技(上海)股份有限公司。小麦胚芽凝集素(wheat germ agglutinin, WGA)染色试剂盒(货号: #25500)购自安诺伦(北京)生物科技有限公司。I型胶原(collagen type I, Collagen I)、III型胶原(collagen type III, Collagen III)、波形蛋白(Vimentin)、cGAS、STING、Tank结合激酶1(TANK-binding kinase 1, TBK1)、干扰素调节因子3(interferon regulatory factor 3, IRF3)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体(货号: 66761-1-Ig、22734-1-AP、10366-1-AP、29958-1-AP、19851-1-AP、83686-3-RR、80519-1-RR、10494-1-AP)购自武汉三鹰生物技术有限公司。磷酸化Tank结合激酶1(phosphorylated TBK1, p-TBK1)、磷酸化干扰素调节因子3(phosphorylated IRF3, p-IRF3)(货号: AF8190、AF2436)购自江苏亲科生物研究中心有限公司。逆转录试剂盒和SYBR Green qPCR试剂盒(货号: R323-01、Q711-02)购自南京诺唯赞生物技术有限公司。

1.3 仪器

ASP6025全自动组织脱水机、三维光学显微镜购自德国Leica公司; VEVO2100型小动物超声系统购自加拿大VisualSonics公司; 高通量组织研磨仪购自德国Retsch公司; 高速冷冻离心机购自美国ThermoFisher Scientific公司; Power Pac TM Basic电泳仪、垂直电泳槽及转移电泳槽购自美国Bio-Rad

公司; M8数字切片扫描成像系统购自德国Precipoint公司。

1.4 动物模型制备和给药

48只C57小鼠按随机数字表法分为Control组10只, 造模组38只。Control组仅开胸不做结扎处理。适应喂养1周后, 第8天行腹腔戊巴比妥钠麻醉下冠状动脉左前降支结扎术。术后连续3天, 所有小鼠均接受青霉素肌肉注射以预防感染。经冠脉结扎后共有30只造模成功, 使用随机数字法将30只小鼠分为Model组($n=10$)、CAG-L组($10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$; $n=10$)、CAG-H组($30 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$; $n=10$)^[12]。从术后第1天开始, CAG-L组和CAG-H组小鼠每天经口灌胃CAG, 而Control组和Model组给予等量的生理盐水, 并每周对每只小鼠进行称重。治疗28天后, 经胸超声心动图评估心功能。然后麻醉小鼠进行采血, 并迅速切除心脏, 拍照和称重。

1.5 心脏彩超检查

小鼠经麻醉后, 取侧卧位固定于操作台。于其心前区使用脱毛膏进行脱毛备皮。采用彩色多普勒超声检测仪进行心脏超声检查, 探头涂抹偶联剂后贴附于小鼠心前区。于连续3个心动周期中, 测量左心室舒张末期内径(left ventricular Internal diameter in diastole, LVIDd)、左心室收缩末期内径(left ventricular internal diameter in systole, LVIDs)、左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)、左心室短轴缩短率(left ventricular fractional shortening, LVFS)等心功能参数。

1.6 ELISA检测血清NT-proBNP、CKMB、cTnI水平

ELISA法测定小鼠血清NT-proBNP、CKMB、cTnI水平, 按试剂盒步骤操作, 酶标仪在450 nm波长处测定各孔的 D 值。

1.7 心肌组织病理染色

小鼠心脏被摘除后, 立即用4%多聚甲醛在4 °C下固定24 h。随后, 组织经梯度乙醇脱水、二甲苯透明, 并用石蜡进行包埋。将包埋组织切成约5 μm 厚的切片, 分别进行HE染色、Masson三色染色及天狼星红染色。染色完成后, 使用ImageJ软件对Masson与天狼星红染色切片进行定量分析, 通过计算胶原纤维阳性面积占心肌组织总面积的百分比[胶原容积分数(collagen volume fraction, CVF)]来评估心肌纤维化程度。

表1 RT-qPCR引物序列
Table 1 Primer sequences of RT-qPCR

基因 Gene	引物序列(5'→3') Primer sequences (5'→3')
<i>Vimentin</i>	Forward: CGG CTG CGA GAG AAA TTG C Reverse: CCA CTT TCC GTT CAA GGT CAA G
<i>Collagen I</i>	Forward: GGA ACC TTC GCT TCC ATA CTC Reverse: ACT GGT ACA TCA GCC CAA AC
<i>Collagen III</i>	Forward: GCC ATC CTC TAG AAC TGT GTA AG Reverse: CAG GCC AAT GGC AAT GTA AG
<i>GAPDH</i>	Forward: TCT CTG CTC CTC CCT GTT CT Reverse: TAC GGC CAA ATC CGT TCA CA

1.8 TUNEL 荧光染色

心肌组织石蜡切片常规脱蜡、水化和抗原修复后,采用TUNEL凋亡检测试剂盒进行染色。切片经蛋白酶K处理后加入TdT酶工作液,37℃孵育60 min,DAPI复染细胞核。用荧光显微镜拍摄图像,随机选取5个视野统计TUNEL阳性细胞数,计算凋亡指数(阳性细胞数/总细胞数×100%)。

1.9 ROS 荧光染色

冷冻心肌切片于室温下晾干后,加入10 μmol/L DHE工作液,避光37℃孵育30 min。随后用PBS轻轻洗涤,DAPI复染细胞核。使用荧光显微镜采集图像,ImageJ软件分析ROS荧光强度。

1.10 WGA 荧光染色

心肌切片晾干后加入WGA染料,室温避光孵育30 min, PBS洗涤, DAPI复染细胞核。使用荧光显微镜采集图像, ImageJ软件测量心肌细胞横截面积, 随机选取5个视野进行统计分析。

1.11 荧光定量聚合酶链反应(quantitative reverse transcription polymerase chain reaction, RT-qPCR) 检测

采用Trizol法提取心肌组织总RNA,随后将其反转录为cDNA。以cDNA为模板,使用实时荧光定量PCR仪进行扩增检测。反应程序设置如下:95℃预变性30 s;扩增阶段共40个循环,每循环包括95℃变性10 s、60℃退火30 s;72℃延伸2 min。以目的基因与GAPDH的相对比值作为其表达量,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因相对比值。引物由北京六合华大基因科技有限公司提供。引物序列见表1。

1.12 蛋白免疫印迹法(Western blot, WB)检测相关蛋白表达情况

取心肌组织约50 mg,加入RIPA裂解液匀浆裂

解,离心(4℃、12 000 rpm、15 min)取上清测定蛋白浓度。等量蛋白经SDS-PAGE电泳后转膜至PVDF膜,5%脱脂奶粉室温封闭1 h,加入一抗(1:2 000)4℃孵育过夜。次日用HRP标记的二抗(1:8 000)孵育1 h后显色,使用凝胶成像系统拍照,ImageJ软件分析灰度值,GAPDH为内参。

1.13 分子对接

分子对接分析采用AutoDock Vina软件进行。cGAS蛋白三维结构来源于Protein Data Bank, CAG的结构来自PubChem数据库,并在对接前进行能量最小化处理。对接网格设置于cGAS的配体结合口袋区域,对接所得构象按结合能从低到高排序,并选取结合能最低的结合模式作为最终对接结果。结合构象及相互作用残基通过PyMOL和LigPlot+软件进行可视化展示。

1.14 统计学分析

使用SPSS 26软件进行数据统计,数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用LSD-*t*检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CAG缓解小鼠体质量下降

为评估CAG对HF小鼠体质量变化的影响,本研究在4周的实验期内监测了小鼠的体质量变化。结果显示,与Control组相比,Model组小鼠体质量显著下降($P<0.01$),表明HF的发生导致了体质量的明显丧失。相比之下,CAG-L和CAG-H组的体质量变化得到一定程度的改善,尤其是CAG-H组,其体质量变化趋势接近正常水平,并且在第2周和第4周的体质量变化上与Model组相比存在显著差异($P<0.05$)。低剂量CAG组的体质量变化虽有所改善,但未达到

统计学显著性 ($P>0.05$)。这些结果表明, CAG能够抑制HF小鼠的体质量丧失, 且其作用呈现一定剂量依赖性, 其中高剂量组在第四周时的作用最为显著, 结果见图1。

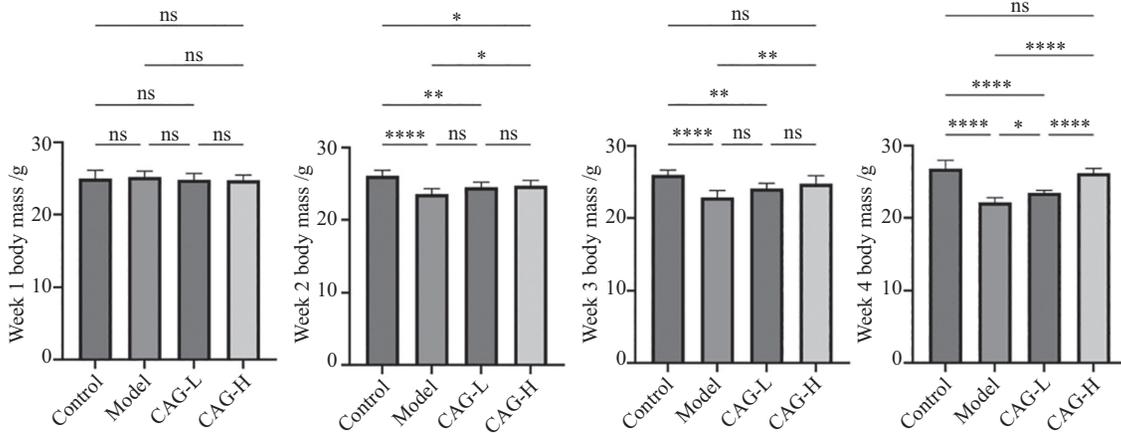
2.2 CAG改善小鼠心功能抑制心肌损伤

为评估CAG对HF小鼠心功能与心肌损伤的保护作用, 本研究分别检测了小鼠的心脏超声参数以及血清NT-proBNP、CKMB、cTnI水平。心脏彩超结果显示, 与Control组相比, Model组小鼠LVEF和LVFS显著下降 ($P<0.01$), 而LVIDd和LVIDs显著升高 ($P<0.01$), 提示心室扩大及收缩功能受损。低剂量和高剂量环黄芪醇干预均可显著改善心脏功能, 其中高剂量组接近正常水平, 提示其在改善心室重构及收缩功能方面具有更明显作用。血清标志物方面, Model组NT-proBNP水平显著升高 ($P<0.01$), 提示HF状态加重。CKMB和cTnI水平亦显著上升 ($P<0.01$), 反映明显的心肌损伤。干预后, 低剂量与高剂量组三项指标均显著下降, 尤其是高剂量组 ($P<0.01$)。综

上所述, CAG可有效缓解HF小鼠的心功能障碍, 抑制心室重构并减轻心肌损伤, 其作用呈现一定剂量依赖性, 结果见图2和表2。

2.3 CAG改善心肌组织病理损伤及纤维化

为全面评估CAG对心肌损伤及纤维化的保护作用, 本研究对小鼠心肌组织进行了HE、天狼星红及Masson染色分析。HE染色显示, Control组心肌结构完整、纤维排列规则; Model组则出现明显心肌坏死、炎性细胞浸润和心内膜水肿, 提示心肌损伤严重。CAG-L组病变程度有所减轻, 而CAG-H组心肌结构明显改善, 炎症、水肿及坏死均显著减少。天狼星红染色进一步从胶原类型角度揭示纤维化变化。Control组以III型胶原为主, 纤维细小且均匀; Model组则呈大量粗大的I型胶原沉积并伴随III型胶原水平下降 ($P<0.05, P<0.01$), 提示发生显著胶原类型转化。CAG-L组表现为I型胶原减少、III型胶原部分恢复 ($P<0.05$), CAG-H组胶原结构趋于均匀, 以III型胶原为主 ($P<0.05$), 提示其改善纤维重构作用



ns $P>0.05$, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.0001$, ^{ns} $P>0.05$.

图1 各组小鼠体质量变化

Fig.1 Changes in body mass of mice in each group

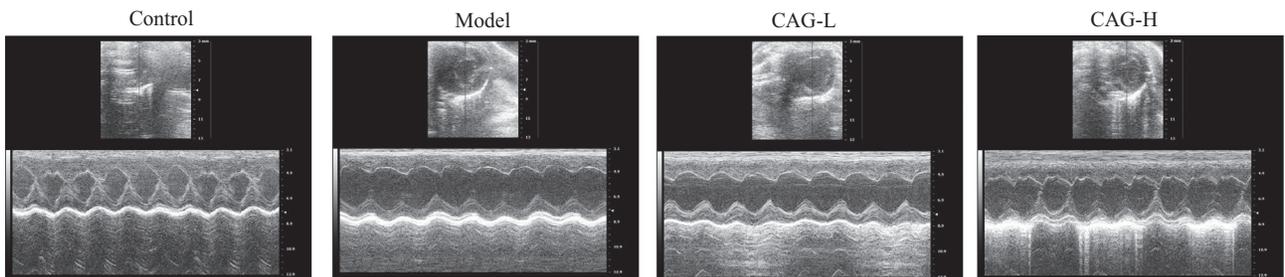


图2 各组小鼠心脏超声图

Fig.2 Echocardiograms of mice in each group

表2 各组小鼠心脏功能及损伤指标比较

Table 2 Comparison of cardiac function and injury indicators in each group of mice

分组 Group	左心室射血分数/% LVEF /%	左心室短轴缩短率/% LVFS /%	左心室舒张末期 期内径/mm LVIDd /mm	左心室收缩 末期径/mm LVIDs /mm	N末端B型钠尿肽原 NT-ProBNP	肌酸激酶同工 酶 CKMB	心肌肌钙蛋白I cTnI
Control group	53.60±3.83	28.62±2.50	4.10±0.21	2.96±0.18	767.26±84.32	2.10±0.76	78.38±13.50
Model group	28.00±5.18**	13.40±1.81**	5.85±0.39**	4.58±0.35**	1 945.68±195.61**	211.0±20.65**	370.73±23.45**
CAG-L group	39.70±1.95 [#]	16.75±1.01 [#]	5.16±0.17 [#]	4.25±0.13	1 017.37±92.34 [#]	18.74±5.61 [#]	235.17±27.80 [#]
CAG-H group	40.67±3.44 [#]	20.67±2.10 ^{#&&}	4.47±0.20 ^{#&&}	3.07±0.19 ^{#&&}	841.04±120.93 ^{#&&}	15.74±2.38 [#]	153.87±27.36 ^{#&&}

$n=10$; ** $P<0.01$, 与Control组比较; [#] $P<0.01$, 与Model组比较; ^{&&} $P<0.01$, 与CAG-L组比较。

$n=10$; ** $P<0.01$ compared with Control group; [#] $P<0.01$ compared with Model group; ^{&&} $P<0.01$ compared with CAG-L group.

更为显著。Masson染色用于分析不同心肌区域的纤维化空间分布。Control组在梗死区、边缘区和远端区均仅见少量胶原沉积; Model组三处区域均出现显著纤维化, 且梗死区最为严重($P<0.01$)。CAG-L组在梗死区改善有限($P>0.05$), 但在边缘区和远端区胶原沉积明显减少($P<0.01$); CAG-H组则在三处区域胶原沉积均呈显著下降($P<0.01$)。综上, CAG呈剂量依赖性地缓解心肌组织损伤和纤维化重构, 结果见图3、表3和表4。

2.4 CAG抑制心肌病理性肥大

WGA染色用于评估心肌细胞横截面积变化, 以反映心肌肥大程度。结果显示, Model组小鼠心肌细胞横截面积显著增大, 明显高于Control组($P<0.01$), 提示在心衰状态下发生了典型的病理性心肌肥大。CAG干预后, 低剂量组细胞面积减小($P<0.05$), 高剂量组细胞面积显著减小($P<0.01$), 其中高剂量组接近正常水平。以上结果表明, CAG可有效抑制病理状态下的心肌细胞肥大, 具有明显的剂量依赖性保护作用, 提示其在改善心肌重构中的潜在价值, 结果见图4和表5。

2.5 CAG减轻心肌凋亡与ROS积聚

为进一步评估CAG对心肌氧化应激与细胞凋亡的干预作用, 本研究检测了心肌组织中ROS水平及TUNEL阳性细胞数量。结果显示, Model组小鼠心肌组织中ROS水平显著升高($P<0.01$), 同时TUNEL阳性细胞数也显著增加($P<0.01$), 提示心肌细胞受到了明显的氧化损伤及凋亡反应。干预后, 低剂量组ROS水平与TUNEL阳性细胞数虽较Model组下降($P<0.01$), 但仍显著高于Control组。而高剂量组中, ROS水平及TUNEL阳性细胞数进一步降低, 显著低于Model组($P<0.01$), 接近正常水平。上述结果提示, CAG具有显著的抗氧化与抗凋亡作用, 且在高剂量下呈现更

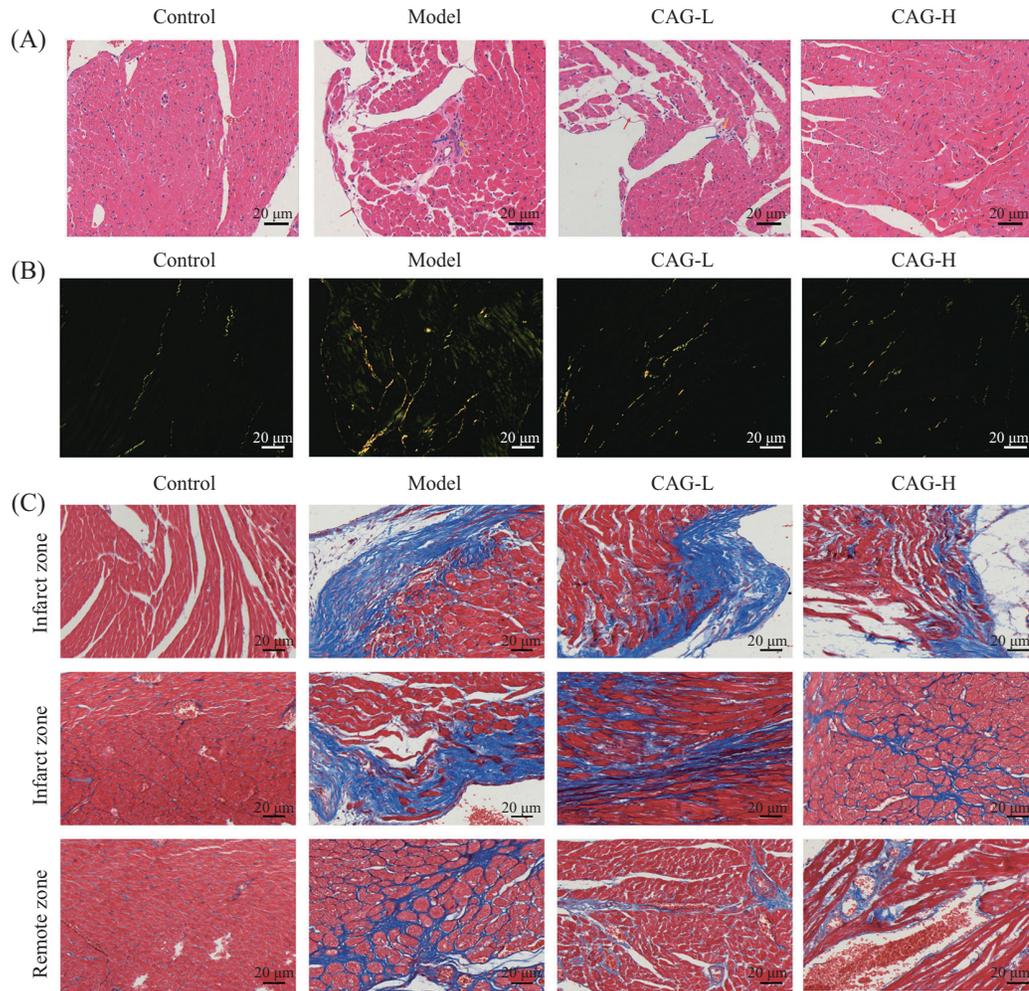
优的组织保护效果, 结果见图5、图6和表5。

2.6 CAG抑制炎症表达

为进一步评估CAG对心衰状态下炎症反应的调控作用, 本研究检测了IL-1 β 、IL-6、TNF- α 三种关键炎症因子的血清表达水平。结果显示, 与Control组相比, Model组小鼠IL-1 β 、IL-6和TNF- α 水平均显著升高($P<0.01$), 提示在心衰模型中炎症反应显著激活。经过CAG干预后, 低剂量组炎症因子表达水平均有所下降, 差异较Model组显著(均 $P<0.01$); 高剂量组效果更为明显, 接近正常水平($P<0.01$)。上述结果表明, CAG可有效下调IL-1 β 、IL-6及TNF- α 炎症因子的表达水平, 抑制心衰相关炎症反应, 并呈现出一定的剂量依赖性调控特征, 结果见表6。

2.7 CAG抑制心脏纤维化

为评估CAG对心肌纤维化相关指标的干预作用, 本研究从蛋白水平和转录水平同步检测了Vimentin、Collagen I、Collagen III的表达变化。蛋白水平上, 与Control组相比, Model组Vimentin、Collagen I与Collagen III表达水平均显著上调($P<0.01$), 提示心衰状态下心肌组织发生明显的间充质激活及胶原沉积。低剂量组三项蛋白表达水平虽有所下降, 但仍高于Control组, 而高剂量组蛋白表达水平接近正常, 差异具有统计学意义($P<0.05$), 提示CAG对心肌纤维化具有显著抑制作用。转录表达方面, Model组中Vimentin、Collagen I、Collagen III的mRNA水平显著升高($P<0.01$)。低剂量组虽表现出一定程度的下调, 但仅Collagen I和Collagen III的mRNA表达较Model组具有统计学差异($P<0.01$)。高剂量组三项mRNA表达水平均显著下降至接近正常水平, 与Model组差异显著($P<0.01$)。综上, CAG在基因转录水平抑制间充质表型转化与纤维化的



A: 各组小鼠HE染色图: 心肌坏死(蓝色箭头), 炎性细胞浸润(黄色箭头), 心内膜水肿(红色箭头); B: 各组小鼠天狼星红染色: 橙红为I型胶原, 黄绿色为III型胶原; C: 各组小鼠Masson染色。

A: HE staining of myocardial tissues in each group, showing myocardial necrosis (blue arrows), inflammatory cell infiltration (yellow arrows), and endocardial edema (red arrows). B: Sirius red staining of myocardial tissues in each group; orange-red indicates type I collagen, and yellow-green indicates type III collagen. C: Masson staining of myocardial tissues in each group.

图3 各组小鼠心肌组织病理染色

Fig.3 Pathological staining of myocardial tissues in each group of mice

表3 各组小鼠心脏纤维化指标比较

Table 3 Comparison of cardiac fibrosis indicators between groups of mice

分组 Group	I型胶原/% Collagen I /%	III型胶原/% Collagen III /%
Control group	5.67±2.08	30.33±4.51
Model group	20.67±5.13**	14.33±4.04*
CAG-L group	11.00±3.24 [#]	21.67±3.21 [#]
CAG-H group	7.67± 2.52 [#]	26.00±5.29 [#]

$n=4$; * $P<0.05$, ** $P<0.01$, 与 Control组比较; [#] $P<0.05$, 与 Model组比较。

$n=4$; * $P<0.05$, ** $P<0.01$ compared with Control group; [#] $P<0.05$, compared with Model group.

作用, 结果见图7和表7。

2.8 环黄芪醇与cGAS分子对接结果

为进一步验证CAG与cGAS之间可能存在的直

接作用, 本研究开展了分子对接分析。对接结果显示, CAG与cGAS之间具有较强的结合能力, 其结合能力-10.0 kcal/mol, 提示结合模式十分稳定。三维结构

表4 各组小鼠心脏梗死区、边缘区、远端区胶原沉积比较

Table 4 Intergroup comparison of collagen deposition in the infarct zone, border zone, and remote myocardial zone

分组 Group	梗死区/% Infarct zone /%	边缘区/% Border zone /%	远端区/% Remote zone /%
Control	2.15±1.62	3.44±1.78	3.47±2.86
Model	57.35±7.84**	52.84±6.77**	35.61±8.18**
CAG-L	53.75±6.84	34.42±8.26 [#]	18.72±3.67 [#]
CAG-H	38.33±9.61 ^{#&&}	22.43±6.79 ^{#&&}	13.15±3.72 ^{#&&}

n=4; **P<0.01, 与 Control组比较; [#]P<0.01, 与Model组比较; ^{&&}P<0.01, 与 CAG-L组比较。

n=4; **P<0.01 compared with Control group; [#]P<0.01 compared with Model group; ^{&&}P<0.01 compared with CAG-L group.

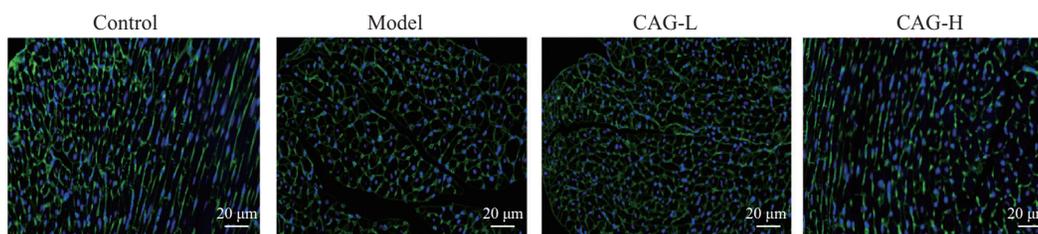


图4 各组小鼠心脏WGA染色

Fig.4 WGA staining of the hearts of mice in each group

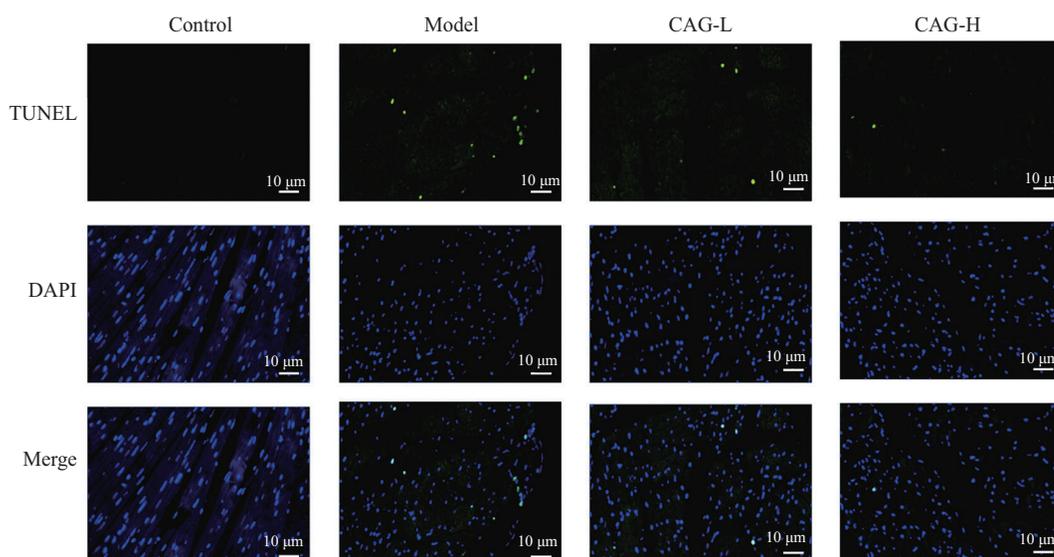
表5 各组小鼠细胞面积、凋亡率、ROS荧光强度比较

Table 5 Comparison of cell area, apoptosis rate and ROS fluorescence intensity in each group of mice

分组 Group	细胞面积/μm ² Cell area /μm ²	阳性细胞凋亡率/% Apoptotic rate /%	活性氧水平 ROS level
Control group	313.50±28.73	2.25±1.89	0.79±0.37
Model group	672.25±40.91**	14.25±2.63**	14.33±1.83**
CAG-L group	565.75±37.98 [#]	9.25±2.22 [#]	8.26±2.17 [#]
CAG-H group	449.50±52.91 ^{#&&}	6.50±1.29 [#]	4.86±2.04 ^{#&&}

n=4; **P<0.01, 与 Control组比较; [#]P<0.05, [#]#P<0.01, 与Model组比较; [&]P<0.05, ^{&&}P<0.01, 与 CAG-L组比较。

n=4; **P<0.01 compared with Control group; [#]P<0.05, [#]#P<0.01 compared with Model group; [&]P<0.05, ^{&&}P<0.01 compared with CAG-L group.

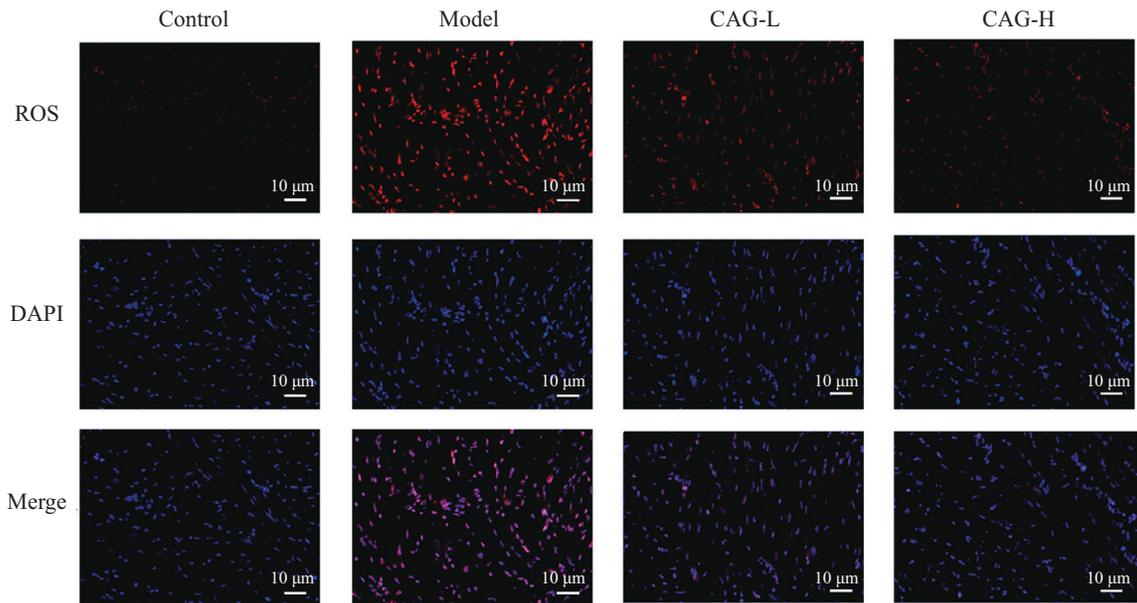


绿色荧光表示TUNEL阳性凋亡细胞, 蓝色(DAPI)表示细胞核。

Green fluorescence indicates TUNEL-positive apoptotic cells, and blue fluorescence (DAPI) indicates nuclei.

图5 各组小鼠TUNEL染色

Fig.5 TUNEL staining of mice in each group



红色荧光表示ROS阳性信号, 蓝色(DAPI)表示细胞核。

Red fluorescence indicates ROS-positive signals, and blue fluorescence (DAPI) indicates nuclei.

图6 各组小鼠心脏ROS染色

Fig.6 ROS staining in the hearts of mice in each group

表6 各组小鼠血清炎症因子比较

Table 6 Comparison of serum inflammatory factors in each group of mice

分组 Group	白细胞介素-1 β /pg·mL ⁻¹ IL-1 β /pg·mL ⁻¹	白细胞介素-6/pg·mL ⁻¹ IL-6/pg·mL ⁻¹	肿瘤坏死因子- α /pg·mL ⁻¹ TNF- α /pg·mL ⁻¹
Control group	81.42 \pm 10.12	103.25 \pm 8.11	519.84 \pm 39.68
Model group	160.99 \pm 19.04**	177.58 \pm 17.25**	888.26 \pm 88.35**
CAG-L group	108.23 \pm 15.37 ^{##}	131.09 \pm 14.76 ^{##}	648.42 \pm 74.66 ^{##}
CAG-H group	96.61 \pm 11.12 ^{##&&}	105.88 \pm 11.77 ^{##&&}	533.91 \pm 59.20 ^{##&&}

$n=10$; ** $P<0.01$, 与 Control 组比较; ^{##} $P<0.01$, 与 Model 组比较; ^{&&} $P<0.01$, 与 CAG-L 组比较。

$n=10$; ** $P<0.01$ compared with Control group; ^{##} $P<0.01$ compared with Model group; ^{&&} $P<0.01$ compared with CAG-L group.

显示, CAG主要结合于 cGAS的配体结合口袋内, 可与多个关键氨基酸残基产生相互作用。其中, CAG 可与 Lys122、Ser215、Ser271和 Arg273等残基形成氢键作用, 同时还与 Ile167、Ile168、Phe170、Phe217、Phe264等残基产生显著的疏水相互作用, 从而进一步稳定结合构象。二维相互作用图进一步证实了上述结合模式, 显示CAG能稳定嵌入cGAS的活性腔体中。这一结果提示, CAG可能通过与cGAS直接结合而对cGAS-STING通路发挥抑制作用, 结果见图8。

2.9 CAG抑制cGAS-STING信号通路

WB结果显示, Model组心肌组织中cGAS、STING、p-TBK1、p-IRF3表达水平均显著上调($P<0.05$, $P<0.01$), 提示在HF状态下cGAS-STING通路被显著激活, 并引发细胞内炎症级联反应。经过CAG干预后, 各剂量组蛋白表达水平均出现下

降。低剂量组较Model组蛋白表达水平显著降低($P<0.05$, $P<0.01$); 高剂量组干预效果更为明显, 蛋白表达已接近或恢复至正常水平($P<0.01$)。上述结果提示, cGAS-STING信号通路在心衰病理进程中被异常激活, CAG能够以剂量依赖方式抑制该通路的活化, 进而发挥抗炎保护作用, 结果见图9和表8。

3 讨论

HF作为终末期心血管疾病, 其病理机制复杂, 涉及炎症反应、免疫激活、心肌细胞凋亡及心肌重构等多个环节^[13-16]。目前临床虽有多种药物用于控制HF症状, 但对于炎症驱动的心肌损伤与结构性改变缺乏特异性干预手段^[17]。因此, 探索针对免疫炎症通路的小分子药物, 尤其是具有多靶点特征的天然成分, 成为近年来研究关注的热点方向。

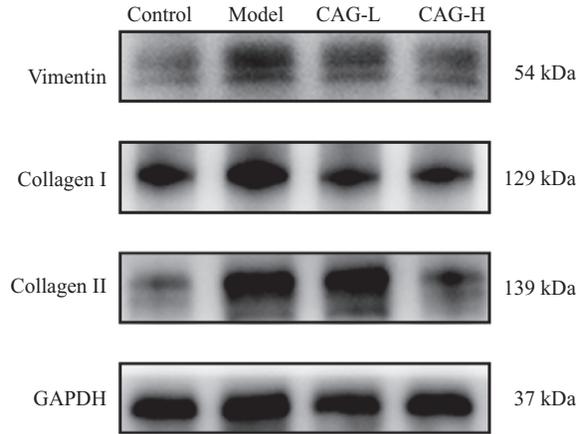


图7 各组小鼠心脏Vimentin、Collagen I、Collagen III条带图
Fig.7 Bands of Vimentin, Collagen I, and Collagen III in the hearts of mice in each group

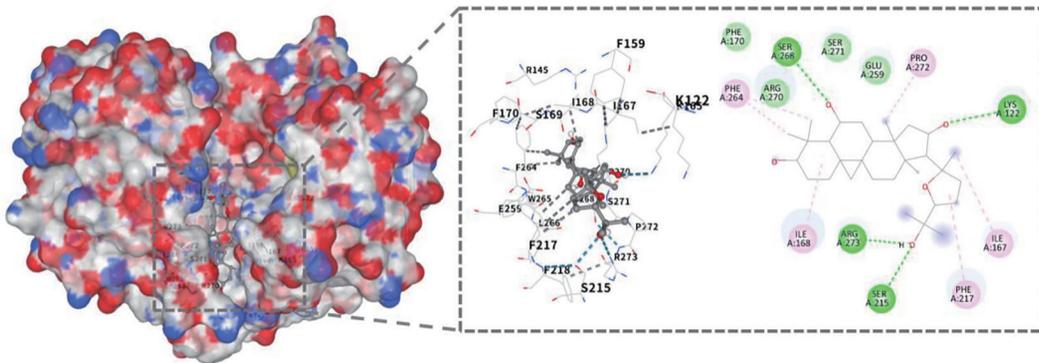
表7 各组小鼠纤维化指标比较

Table 7 Comparison of fibrosis indicators in each group of mice

分组 Group	波形蛋白相对表达量 Vimentin/GAPDH	I型胶原相对表达量 Collagen I/GAPDH	II型胶原相对表达量 Collagen II/GAPDH	波形蛋白 Vimentin	I型胶原 Collagen I	II型胶原 Collagen II
Control group	1.10±0.36	1.50±0.30	1.07±0.32	1.01±0.12	1.02±0.22	1.02±0.22
Model group	2.37±0.36**	2.40±0.36*	2.55±0.34**	3.73±0.33**	4.77±0.84**	7.40±0.68**
CAG-L group	1.97±0.15	1.23±0.25 ^{###}	2.33±0.43	2.48±0.25 ^{###}	3.19±0.27 ^{###}	5.22±0.65 ^{###}
CAG-H group	1.43±0.42 [#]	1.21±0.36 ^{###}	1.48±0.31 ^{#&}	0.98±0.14 ^{###&&}	1.13±0.23 ^{###&&}	2.44±0.25 ^{###&&}

n=3; *P<0.05, **P<0.01, 与Control组比较; [#]P<0.05, ^{###}P<0.01, 与Model组比较; [&]P<0.05, ^{&&}P<0.01, 与CAG-L组比较。

n=3; *P<0.05, **P<0.01 compared with Control group; [#]P<0.05, ^{###}P<0.01 compared with Model group; [&]P<0.05, ^{&&}P<0.01 compared with CAG-L group.



从左往右依次为: CAG在cGAS活性口袋中的三维结合构象; CAG与氨基酸残基之间的氢键和疏水相互作用; CAG与cGAS结合的二维相互作用图。
From left to right: the 3D binding conformation of CAG within the active pocket of cGAS; the hydrogen-bonding and hydrophobic interactions between CAG and the amino acid residues of cGAS; the 2D interaction diagram of the CAG-cGAS complex.

图8 CAG与cGAS的分子对接结果
Fig.8 Molecular docking results of CAG with cGAS

cGAS-STING信号通路作为细胞识别胞质DNA并激活I型干扰素及多种炎症因子的关键通路, 近年来被广泛认为参与了多种炎症相关疾病的发生发展^[18-19]。已有研究表明该通路在心肌缺血、压力负荷等心血管应激状态中异常激活, 驱动心肌细胞损伤、凋亡、成纤维细胞激活以及纤维化形成^[20-21]。其机制在于,

cGAS识别细胞损伤后释放的胞质DNA, 产生第二信使cGAMP并激活STING, 进而启动TBK1/IRF3介导的转录程序, 引发I型干扰素与IL-1β、IL-6、TNF-α等多种促炎因子的大量释放^[22-24]; 这些炎症介质不仅造成心肌细胞膜稳定性破坏与细胞凋亡加剧, 还可通过旁分泌效应驱动成纤维细胞异常活化, 使其由静息

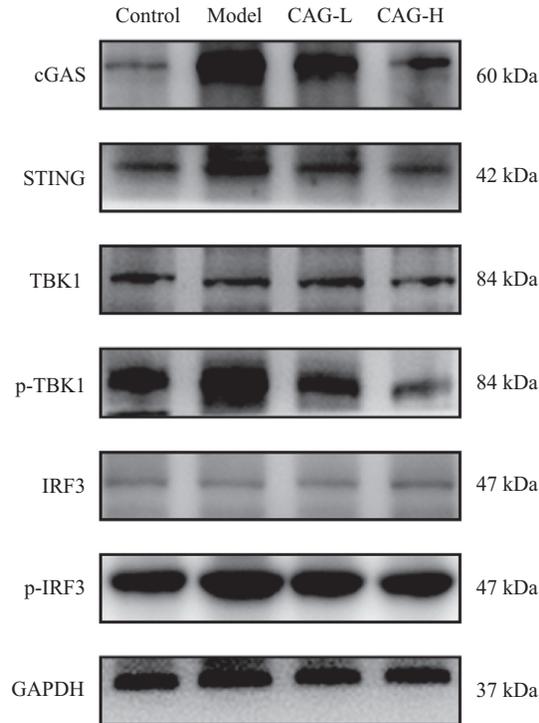


图9 各组小鼠心脏cGAS、STING、TBK1、p-TBK1、IRF3、p-IRF3条带图

Fig.9 Western blot images of cGAS, STING, TBK1, p-TBK1, IRF3, and p-IRF3 in the hearts of mice in each group

表8 各组小鼠cGAS-STING通路指标比较

Table 8 Comparison of cGAS-STING pathway indicators in each group of mice

分组 Group	cGAS相对表达量 cGAS/GAPDH	STING相对表达量 STING/GAPDH	TBK1磷酸化水平 p-TBK1/TBK1	IRF3磷酸化水平 p-IRF3/IRF3
Control group	1.14±0.34	0.84±0.18	1.58±0.27	0.99±0.22
Model group	4.69±0.50**	2.14±0.28*	3.18±0.39**	2.14±0.23**
CAG-L group	2.67±0.51 [#]	1.37±0.17 [#]	1.47±0.18 [#]	1.17±0.16 [#]
CAG-H group	1.22±0.57 ^{#&&}	1.01±0.17 [#]	1.03±0.17 ^{#&}	1.09±0.26 [#]

$n=3$; * $P<0.05$, ** $P<0.01$, 与 Control组比较; [#] $P<0.05$, [#] $P<0.01$, 与Model组比较; [&] $P<0.05$, ^{&&} $P<0.01$, 与 CAG-L组比较。

$n=3$; * $P<0.05$, ** $P<0.01$ compared with Control group; [#] $P<0.05$, [#] $P<0.01$ compared with Model group; [&] $P<0.05$, ^{&&} $P<0.01$ compared with CAG-L group.

状态向高分泌、高合成表型转变^[25]。活化后的成纤维细胞进一步上调Collagen I和Collagen III等胶原蛋白合成,引起细胞外基质(extracellular matrix, ECM)过度沉积和肌纤维排列紊乱^[26]。随着炎症、纤维化过程的持续推进,心室顺应性下降、壁应力增高、心肌收缩功能减弱,最终形成进行性心室重构和心力衰竭表型。需要强调的是,上述病理变化可能并非单向过程,而呈现自我强化的级联放大特征,cGAS-STING通路的异常激活可诱导炎症反应持续升级,继而驱动成纤维细胞异常激活与胶原沉积,导致心肌细胞损伤进一步恶化;损伤细胞释放的胞质DNA又可重新刺激cGAS-STING介导的免疫应答,使炎症与纤维化反应不断循环放大,最终推动HF

进展^[27-28]。本研究发现,在HF小鼠模型中,cGAS、STING、p-TBK1和p-IRF3蛋白水平显著升高,且IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等炎症因子及Vimentin、Collagen I和Collagen III的表达也显著上调。这些结果提示,cGAS-STING通路在心力衰竭过程中发挥了重要作用,参与了持续性炎症的激发与维持,可能是推动心力衰竭进展的关键机制之一。

CAG作为黄芪中的代表性三萜类单体,已有研究证实其具有抗炎、抗氧化、保护心脑血管等多重活性^[29]。本研究首次发现,CAG能够以剂量依赖的方式下调cGAS-STING信号通路关键蛋白的表达,尤其在高剂量组中显著抑制p-TBK1和p-IRF3的表达,提示CAG可能对该通路具有直接或间接的负向

调控作用。同时, CAG显著降低了炎症因子的水平, 抑制了心肌细胞凋亡和ROS的积聚, 表明其抗炎与抗氧化效应可能与cGAS-STING通路的调控密切相关。除了炎症反应外, HF还常伴随明显的心肌重构与纤维化反应^[30-31]。HE、Masson以及天狼星红染色结果显示, CAG显著缓解了模型小鼠的心肌结构紊乱、胶原沉积以及I/III型胶原比例的失衡。Western blot和PCR分析进一步证实, CAG能够下调Vimentin、Collagen I和III的表达, 抑制纤维化。与cGAS-STING通路抑制的结果一致, 高剂量组的CAG展现出更强的抗纤维化效应, 提示其可能通过改善免疫微环境来逆转病理性心肌重构。此外, CAG还有效抑制了心肌细胞的病理性肥大, 恢复了心脏的泵血功能, 并减少了心肌损伤标志物的表达。这一系列综合保护作用进一步支持了CAG在心力衰竭防治中的潜在应用价值。

本研究虽然从动物模型和分子机制角度初步阐明了CAG通过cGAS-STING信号通路缓解心衰的作用, 但仍存在一定局限。首先, 尚未通过cGAS或STING特异性敲除模型、激动剂/抑制剂干预等手段进一步建立该信号通路在CAG改善HF表型中的直接因果关系, 因此目前的证据主要支持机制关联性, 而非线性的因果靶点关系; 其次, 尚未在心肌细胞水平系统评估CAG对cGAS-STING信号及炎症-纤维化反应的直接调控效应。后续研究应结合体内外模型、靶点验证及结构模拟等手段, 明确CAG与cGAS-STING通路的相互作用机制, 进一步拓展其在免疫相关心血管疾病中的应用场景。

综上所述, 本研究首次证实了cGAS-STING通路在HF进程中的激活特征, 并揭示了CAG通过抑制该通路发挥抗炎、抗纤维化及抗凋亡作用的机制。这一发现为CAG作为天然小分子药物的开发提供了重要的理论基础, 也为靶向cGAS-STING通路的心力衰竭治疗提供了新的策略。这一研究不仅深化了我们对HF发病机制的理解, 也为未来相关药物的研发和临床应用提供了新的思路。

参考文献 (References)

- [1] TOMASONI D, ADAMO M, LOMBARDI C M, et al. Highlights in heart failure [J]. ESC Heart Fail, 2019, 6(6): 1105-27.
- [2] TOMASONI D, VISHRAM-NIELSEN J K K, PAGNESI M, et al. Advanced heart failure: guideline-directed medical therapy, diuretics, inotropes, and palliative care [J]. ESC Heart Fail, 2022, 9(3): 1507-23.
- [3] FRANGOIANNIS N G. Editor's choice-activation of the innate immune system in the pathogenesis of acute heart failure [J]. Eur Heart J Acute Cardiovasc Care, 2018, 7(4): 358-61.
- [4] MARTINI E, KUNDERFRANCO P, PEANO C, et al. Single-cell sequencing of mouse heart immune infiltrate in pressure overload-driven heart failure reveals extent of immune activation [J]. Circulation, 2019, 140(25): 2089-107.
- [5] DVORKIN S, CAMBIER S, VOLKMAN H E, et al. New frontiers in the cGAS-STING intracellular DNA-sensing pathway [J]. Immunity, 2024, 57(4): 718-30.
- [6] AN C, LI Z, CHEN Y, et al. The cGAS-STING pathway in cardiovascular diseases: from basic research to clinical perspectives [J]. Cell Biosci, 2024, 14(1): 58.
- [7] TIAN M, LI F, PEI H. The cGAS-STING pathway: a new therapeutic target for ischemia-reperfusion injury in acute myocardial infarction [J]? Biomedicines, 2024, doi: 10.3390/biomedicines12081832.
- [8] LÜ J, ZHU X, XING C, et al. Stimulator of interferon genes (STING): key therapeutic targets in ischemia/reperfusion injury [J]. Biomed Pharmacother, 2023, 167: 115458.
- [9] YILMAZ S, BEDIR E, BALLAR KIRMIZIBAYRAK P. The role of cycloastragenol at the intersection of NRF2/ARE, telomerase, and proteasome activity [J]. Free Radic Biol Med, 2022, 188: 105-16.
- [10] YU Y, ZHOU L, YANG Y, et al. Cycloastragenol: an exciting novel candidate for age-associated diseases [J]. Exp Ther Med, 2018, 16(3): 2175-82.
- [11] WANG J, WU M, CAO S, et al. Cycloastragenol ameliorates experimental heart damage in rats by promoting myocardial autophagy via inhibition of AKT1-RPS6KB1 signaling [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 107: 1074-81.
- [12] XIAO S, LIU L, QIN X, et al. Cycloastragenol targets Fpr2 to inhibit the TLR4/NF-kappaB signaling pathway and alleviate neuroinflammation in Parkinson's disease [J]. Phytomedicine, 2025, 139: 156462.
- [13] FANG Z, RAZA U, SONG J, et al. Systemic aging fuels heart failure: molecular mechanisms and therapeutic avenues [J]. ESC Heart Fail, 2025, 12(2): 1059-80.
- [14] ALEXANIAN M, PADMANABHAN A, NISHINO T, et al. Chromatin remodelling drives immune cell-fibroblast communication in heart failure [J]. Nature, 2024, 635(8038): 434-43.
- [15] ZHANG H, DHALLA N S. The role of pro-inflammatory cytokines in the pathogenesis of cardiovascular disease [J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(2): 1082.
- [16] ALCAIDE P, KALLIKOURDIS M, EMIG R, et al. Myocardial inflammation in heart failure with reduced and preserved ejection fraction [J]. Circ Res, 2024, 134(12): 1752-66.
- [17] FRANCISCO J, DEL RE D P. Inflammation in myocardial ischemia/reperfusion injury: underlying mechanisms and therapeutic potential [J]. Antioxidants, 2023, 12(11): 1944.
- [18] ODURO P K, ZHENG X, WEI J, et al. The cGAS-STING signaling in cardiovascular and metabolic diseases: future novel target option for pharmacotherapy [J]. Acta Pharm Sin B, 2022, 12(1): 50-75.
- [19] DECOU A, KATZ J D, VENKATRAMAN S, et al. The cGAS-STING pathway as a therapeutic target in inflammatory diseases

- [J]. *Nat Rev Immunol*, 2021, 21(9): 548-69.
- [20] XIONG Y, LENG Y, TIAN H, et al. Decreased MFN2 activates the cGAS-STING pathway in diabetic myocardial ischaemia-reperfusion by triggering the release of mitochondrial DNA [J]. *Cell Commun Signal*, 2023, 21(1): 192.
- [21] HU S, GAO Y, GAO R, et al. The selective STING inhibitor H-151 preserves myocardial function and ameliorates cardiac fibrosis in murine myocardial infarction [J]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 107: 108658.
- [22] CHAUVIN S D, STINSON W A, PLATT D J, et al. Regulation of cGAS and STING signaling during inflammation and infection [J]. *J Biol Chem*, 2023, 299(7): 104866.
- [23] ZENG P, YIN W. The cGAS-STING signaling pathway: a crosstalk of infection, senescence and tumors [J]. *Cell Cycle*, 2023, 22(1): 38-56.
- [24] ZHANG Z, ZHOU H, OUYANG X, et al. Multifaceted functions of STING in human health and disease: from molecular mechanism to targeted strategy [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 394.
- [25] CADOSCH N, GIL-CRUZ C, PEREZ-SHIBAYAMA C, et al. Cardiac fibroblastic niches in homeostasis and inflammation [J]. *Circ Res*, 2024, 134(12): 1703-17.
- [26] FAN D, TAKAWALE A, LEE J, et al. Cardiac fibroblasts, fibrosis and extracellular matrix remodeling in heart disease [J]. *Fibrogenesis Tissue Repair*, 2012, 5(1): 15.
- [27] LIU J, ZHOU J, LUAN Y, et al. cGAS-STING, inflammasomes and pyroptosis: an overview of crosstalk mechanism of activation and regulation [J]. *Cell Commun Signal*, 2024, 22(1): 22.
- [28] FENG L, ZHANG F, CAO J, et al. Role of cGAS-STING pathway in fibrotic disease [J]. *Pharmacol Res*, 2025, 221: 107971.
- [29] SUN C, JIANG M, ZHANG L, et al. Cycloastragenol mediates activation and proliferation suppression in concanavalin A-induced mouse lymphocyte pan-activation model [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2017, 39(3): 131-9.
- [30] BACMEISTER L, SCHWARZL M, WARNKE S, et al. Inflammation and fibrosis in murine models of heart failure [J]. *Basic Res Cardiol*, 2019, 114(3): 19.
- [31] GONZALEZ A, SCHELBERT E B, DIEZ J, et al. Myocardial interstitial fibrosis in heart failure: biological and translational perspectives [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2018, 71(15): 1696-706.