

◆ 实验研究 ◆

## 黄芩苷调节cGAS-STING信号通路对糖尿病心肌病大鼠炎症反应的影响

宣疆英<sup>1</sup>, 王燕平<sup>1</sup>, 张义林<sup>2</sup>

1. 杭州市第九人民医院药剂科, 浙江 杭州 310000; 2. 杭州市第九人民医院心血管内科, 浙江 杭州 310000

**[摘要]** 目的: 探讨黄芩苷调节GMP-AMP合成酶(cGAS)-干扰素基因刺激因子(STING)信号通路对糖尿病心肌病(DCM)大鼠炎症反应的影响。方法: 取SD大鼠通过高脂饲料喂养+腹腔注射链脲佐菌素(STZ)来构建DCM模型, 并随机分为模型组、黄芩苷(120 mg/kg)组、pc-NC(空载质粒)组、黄芩苷+pc-cGAS(120 mg/kg + cGAS过表达质粒)组, 每组各12只; 另取12只正常大鼠以正常饲料喂养并于腹腔内注射等剂量柠檬酸缓冲液, 设为对照组, 采用黄芩苷和质粒分组干预后测量各组大鼠空腹血糖(FBG), 超声检测大鼠心功能, 并比较各组左心室射血分数(EF)和等容舒张时间(IVRT); TUNEL染色检测大鼠心肌细胞凋亡; ELISA法检测各组大鼠血清肌酸激酶同工酶MB(CK-MB)、乳酸脱氢酶(LDH)与心肌肌钙蛋白I(cTnI)水平、血清及心肌组织炎症指标C-反应蛋白(CRP)、白细胞介素-18(IL-18)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )水平; 免疫印迹法检测各组大鼠心肌组织cGAS-STING通路蛋白表达。结果: 与对照组比较, 模型组大鼠FBG、心肌细胞凋亡率、血清CK-MB、LDH、cTnI、CRP、IL-18与TNF- $\alpha$ 水平、心肌组织CRP、IL-18与TNF- $\alpha$ 水平、cGAS与STING蛋白表达均升高( $P < 0.05$ ), IVRT、EF均降低( $P < 0.05$ )。与模型组比较, 黄芩苷组大鼠FBG、心肌细胞凋亡率、血清CK-MB、LDH、cTnI、CRP、IL-18与TNF- $\alpha$ 水平、心肌组织CRP、IL-18与TNF- $\alpha$ 水平、cGAS与STING蛋白表达均降低( $P < 0.05$ ), IVRT、EF均升高( $P < 0.05$ ); pc-NC组大鼠各指标无明显变化( $P > 0.05$ )。与黄芩苷组比较, 黄芩苷+pc-cGAS组大鼠FBG、心肌细胞凋亡率、血清CK-MB、LDH、cTnI、CRP、IL-18与TNF- $\alpha$ 水平、心肌组织CRP、IL-18与TNF- $\alpha$ 水平、cGAS与STING蛋白表达均升高( $P < 0.05$ ), IVRT、EF均降低( $P < 0.05$ )。结论: 黄芩苷可通过阻止cGAS-STING信号激活而降低血糖水平, 抑制DCM大鼠炎症, 进而减轻大鼠心肌细胞凋亡及心功能损伤。

**[关键词]** 糖尿病心肌病; 黄芩苷; GMP-AMP合成酶; 干扰素基因刺激因子; cGAS-STING通路; 炎症反应; SD大鼠

**[中图分类号]** R285.5; R587.1

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 0256-7415 (2025) 04-0165-07

**DOI:** 10.13457/j.cnki.jncm.2024.04.032

## Effects of Baicalin on Inflammatory Responses in Diabetic Cardiomyopathy Rats by Regulating cGAS-STING Signaling Pathway

XUAN Jiangying<sup>1</sup>, WANG Yanping<sup>1</sup>, ZHANG Yilin<sup>2</sup>

1. Pharmacy Department, Hangzhou Ninth People's Hospital, Hangzhou Zhejiang 310000, China; 2. Cardiovascular Department of Internal Medicine, Hangzhou Ninth People's Hospital, Hangzhou Zhejiang 310000, China

**Abstract: Objective:** To investigate the effects of Baicalin on inflammatory responses in diabetic

**[收稿日期]** 2024-03-27

**[修回日期]** 2024-11-18

**[基金项目]** 浙江省卫生健康科技计划项目 (2022RC072)

**[作者简介]** 宣疆英 (1978-), 女, 医师, E-mail: xuanJy\_1031@163.com。

**[通信作者]** 张义林 (1971-), 男, 主任医师, E-mail: zyl197103@sina.com。

cardiomyopathy (DCM) rats by regulating the cGAS-STING signaling pathway. **Methods:** A total of 48 SD rats were fed a high-fat diet and injected intraperitoneally with streptozotocin (STZ) to establish a DCM model. The rats were randomly divided into four groups: the model group, the Baicalin (120 mg/kg) group, the pc-NC (empty plasmid) group, and the Baicalin and pc-cGAS (120 mg/kg + cGAS overexpression plasmid) group, with 12 rats in each group. Additionally, 12 normal rats were fed a normal diet and injected intraperitoneally with an equal dose of citrate buffer solution, serving as the control group. After intervention with Baicalin and plasmids, fasting blood glucose (FBG) levels were measured, heart function was assessed by ultrasound, and left ventricular ejection fraction (EF) and isovolumic relaxation time (IVRT) were compared among the groups; TUNEL staining was used to detect myocardial cell apoptosis; ELISA was employed to measure the levels of creatine kinase-MB (CK-MB), lactate dehydrogenase (LDH), and cardiac troponin I (cTnI) in serum, as well as serum and myocardial tissue levels of inflammatory markers like C-reactive protein (CRP), interleukin-18 (IL-18), and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ); Western blotting was used to detect the expressions of cGAS-STING pathway proteins in myocardial tissue. **Results:** Compared with those in the control group, the FBG, the myocardial cell apoptosis rate, the levels of CK-MB, LDH, cTnI, CRP, IL-18, and TNF- $\alpha$  in serum, the levels of CRP, IL-18, and TNF- $\alpha$  in myocardial tissue, and the cGAS and STING protein expressions in the model group were significantly increased ( $P < 0.05$ ), and IVRT and EF were significantly decreased ( $P < 0.05$ ). Compared with those in the model group, the FBG, the myocardial cell apoptosis rate, the levels of CK-MB, LDH, cTnI, CRP, IL-18, and TNF- $\alpha$  in serum, the levels of CRP, IL-18, and TNF- $\alpha$  in myocardial tissue, and the cGAS and STING protein expressions in the Baicalin group were decreased ( $P < 0.05$ ), and IVRT and EF were increased ( $P < 0.05$ ); the pc-NC group showed no significant change in these indicators ( $P > 0.05$ ). Compared with those in the Baicalin group, the FBG, the myocardial cell apoptosis rate, the levels of CK-MB, LDH, cTnI, CRP, IL-18, and TNF- $\alpha$  in serum, the levels of CRP, IL-18, and TNF- $\alpha$  in myocardial tissue, and the cGAS and STING protein expressions in the Baicalin and pc-cGAS group were increased ( $P < 0.05$ ), and IVRT and EF were decreased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Baicalin can reduce blood glucose levels, inhibit inflammation in DCM rats, and alleviate myocardial cell apoptosis and heart function damage by preventing the activation of the cGAS-STING signaling pathway.

**Keywords:** Diabetic cardiomyopathy; Baicalin; GMP-AMP synthetase; Stimulator of interferon genes; cGAS-STING pathway; Inflammatory responses; SD Rats

糖尿病性心肌病(DCM)是临床常见的糖尿病并发症之一。糖尿病患者在高糖环境下易出现心肌细胞代谢紊乱、心脏微血管病变、心肌组织特异性病变,从而导致心肌纤维化、肥大与心功能障碍,日久可发展为心力衰竭<sup>[1-2]</sup>。DCM发病机制复杂多样,涉及心肌代谢障碍、钙离子稳态受损、脂质过氧化、炎症等途径,改善心肌细胞凋亡及心肌组织炎症、氧化应激可有效抑制DCM的病情进展<sup>[3-4]</sup>。环状GMP-AMP合成酶(cGAS)是一种胞质DNA传感器,可识别胞质微生物和宿主异常DNA,并通过激活干扰素基因刺激因子(STING)而触发免疫炎症反应,增

强促炎基因的表达,继而放大炎症反应,其异常激活与心血管疾病的发生发展密切相关,故可通过干预cGAS-STING途径治疗心肌病<sup>[5-6]</sup>。Ma XM等<sup>[7]</sup>研究显示,cGAS-STING在DCM体内外模型中被胞质线粒体DNA异常激活,敲低STING或抑制STING激活均能显著减轻DCM小鼠心肌细胞的炎症和凋亡,由此可知cGAS-STING是DCM的潜在防治靶点。黄芩苷是具有抗炎、抗过敏、抗氧化、抗糖尿病及免疫调控等多种药理活性的一种天然黄酮类化合物,可有效改善高血糖引起的大鼠肾小球萎缩和肾小球基底膜增厚<sup>[8]</sup>,并可促使巨噬细胞在缺血/再灌注应激下

从促炎亚型变为M2抗炎亚型,进而通过抑制炎症减轻缺血/再灌注诱导的大鼠心肌损伤<sup>[9]</sup>。高凤威等<sup>[10]</sup>研究显示,黄芩苷可抑制小鼠骨髓源巨噬细胞STING通路活化及炎症因子分泌,因此推测黄芩苷可能通过调控cGAS-STING信号,影响DCM进展。本文通过构建DCM大鼠模型,探究黄芩苷调节cGAS-STING信号通路对其炎症反应的影响。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物** SPF级雄性SD大鼠60只,平均体重(225±15)g,购自杭州启真实验动物科技有限公司。动物生产许可证号为SCXK(浙)2022-0005。动物使用许可证号:SYXK(浙)2022-0006。质量合格证号:20230302Abbz0100999356。饲养于杭州市第九人民医院动物房内,相对湿度(60±5)%,温度(23±2)℃,自由进食饮水,光照12 h/12 h明暗交替,严格遵循3R原则[替代(Replacement)、减少(Reduction)、优化(Refinement)]进行动物实验操作。

**1.2 主要试剂与仪器** 链脲佐菌素(STZ)(批号18883-66-4,含量98.0%),大连美仑生物技术有限公司产品;黄芩苷(批号110715-202122,含量94.2%),中国食品药品检定研究院产品;空载质粒(pc-NC)、cGAS过表达质粒(pc-cGAS),云舟生物科技(广州)股份有限公司产品;TUNEL检测试剂盒-HRP-DAB、乳酸脱氢酶(LDH)检测试剂盒、大鼠肌酸激酶同工酶MB(CK-MB)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、心肌肌钙蛋白I(cTnI)、大鼠白细胞介素-18(IL-18)及C-反应蛋白(CRP)联酶免疫吸附法(ELISA)试剂盒、兔源Anti-Rat cGAS、Anti-Rat β-actin、Anti-Rat STING一抗、(山羊抗兔、HRP)酶标二抗英国Abcam公司产品等。动物血糖仪(型号VQpet™ H),杭州微策生物技术股份有限公司产品;动物超声成像仪(型号Sigma Vet),上海玉研科学仪器有限公司产品;石蜡切片机(型号CUT4062),德国SLEE公司产品;倒置生物显微镜(型号YKSD-700C),上海永科光学仪器有限公司产品;全自动酶标分析仪(型号AMR-100),杭州奥盛仪器有限公司产品;化学发光成像系统(型号ChemiDoc XRS+),垂直电泳套装(型号165-8033),美国Bio-Rad公司产品等。

**1.3 模型制备及给药** 参照文献[11],以高脂饲料喂养SD大鼠4周,于禁食不禁水12 h后一次性腹腔注

射30 mg/kg的STZ,72 h后以动物血糖仪测量大鼠空腹血糖(FBG)水平,若随机2次测量结果均大于16.7 mmol/L,表示DCM大鼠模型构建成功。共成功造模48只,随机分为模型组、黄芩苷组、pc-NC组、黄芩苷+pc-cGAS组,每组12只。另取12只健康大鼠用正常饲料喂养4周后以等剂量柠檬酸缓冲液进行腹腔注射。成功造模后用黄芩苷和质粒分组干预:黄芩苷(120 mg/kg)组大鼠灌胃12 mg/mL的黄芩苷溶液[黄芩苷溶于0.9%氯化钠溶液(生理盐水),体积为10 mL/kg,每天1次]<sup>[9]</sup>,同时于尾静脉注入与黄芩苷+pc-cGAS组等剂量的生理盐水;pc-NC组大鼠于尾静脉注入空载质粒(质粒溶于生理盐水,每周2次),同时灌胃10 mL/kg生理盐水;黄芩苷+pc-cGAS组大鼠以同样方式灌胃120 mg/kg的黄芩苷(每天1次),同时于尾静脉注入cGAS过表达质粒(质粒溶于生理盐水,每周2次);对照组、模型组大鼠尾静脉注入与黄芩苷+pc-cGAS组等剂量的生理盐水,同时灌胃10 mL/kg生理盐水,各组大鼠共干预3周。

**1.4 观察指标检测** ①大鼠FBG和心功能检测。各组大鼠给药干预完成后24 h通过吸入乙醚进行麻醉,用动物超声成像仪经胸检测其心功能,得出其左心室射血分数(EF)和等容舒张时间(IVRT);断尾采集其静脉血,用血糖仪检测其中FBG水平。②TUNEL染色检测大鼠心肌细胞凋亡。FBG水平检测结束后,打开胸腔后自心脏采血,4℃以2 000 r/min,半径20 cm,离心10 min,小心吸出上清得到各组大鼠血清标本,在-20℃冰箱中保存;取出大鼠心脏,剪下约0.6 g心肌组织在RAPI裂解液内研磨匀浆,继而提取出其中总蛋白,用BCA法测出其浓度后将所得各组心肌组织蛋白样品液存在-20℃冰箱中;以生理盐水冲洗余下心肌组织,然后进行固定、脱水、透明、包埋后切片,取无破损及刀痕的心肌组织切片在二甲苯中脱蜡,接着进行水化、TUNEL染色、DAB显色处理,在显微镜下观察并任意视野拍照,用Image J软件定量各组视野中心肌组织凋亡细胞数和总细胞数,算出各组心肌细胞凋亡率,心肌细胞凋亡率(%)=心肌组织凋亡细胞数/心肌组织总细胞数×100%。③ELISA测定大鼠血清心肌损伤标志物、血清及心肌组织炎症指标水平。将上述大鼠血清标本及心肌组织蛋白样品液在温度4℃下慢慢解冻,每组取0.45 mL血清及0.3 mL心肌组织蛋白样品液,

采用LDH检测试剂盒测定血清LDH水平，用ELISA试剂盒测定血清CK-MB、cTnI、CRP、IL-18、TNF-α水平及心肌组织CRP、IL-18、TNF-α水平，具体测定方法如各自试剂盒说明书中所示。④免疫印迹法检测大鼠心肌组织cGAS-STING通路蛋白表达。于上述剩余的各组大鼠心肌组织蛋白样品液中混入等量上样缓冲液，在沸水浴内加热变性其中蛋白，每组取含15 μg总蛋白的样品液进行上样，以110 V恒定电压进行电泳、湿式转印，所得膜上蛋白用脱脂牛奶进行封闭，裁下各组cGAS、β-actin、STING蛋白条带，分别孵育兔源Anti-Rat cGAS、Anti-Rat β-actin、Anti-Rat STING一抗，震荡洗膜后孵育酶标二抗，ECL显色后进行拍照，用Image J软件定量各组蛋白灰度值，然后以内参β-actin为基准量化各组cGAS、STING蛋白相对表达。

**1.5 统计学方法** 所有数据均采用GraphPad Prism8.0统计学软件进行分析。计量资料符合正态分布者以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示，采用单因素方差分析比较多组间差异，两两间差异进一步比较进行SNK-*q*检验。*P* < 0.05表示差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各组大鼠血糖水平、心功能比较** 见表1。与对照组比较，模型组大鼠FBG升高(*P* < 0.05)，IVRT、EF降低(*P* < 0.05)。与模型组比较，黄芩苷组

大鼠FBG均降低(*P* < 0.05)，IVRT、EF均升高(*P* < 0.05)；pc-NC组大鼠FBG、IVRT、EF无明显变化(*P* > 0.05)。与黄芩苷组比较，黄芩苷+pc-cGAS组大鼠FBG升高(*P* < 0.05)，IVRT、EF均降低(*P* < 0.05)。

| 表1 各组大鼠血糖水平、心功能比较( $\bar{x} \pm s$ ) |    |                         |                         |                         |
|--------------------------------------|----|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 组别                                   | 鼠数 | FBG(mmol/L)             | IVRT(ms)                | EF(%)                   |
| 对照组                                  | 12 | 5.63±1.21               | 48.02±3.13              | 87.59±3.46              |
| 模型组                                  | 12 | 23.97±2.84 <sup>①</sup> | 30.14±1.90 <sup>①</sup> | 62.41±2.39 <sup>①</sup> |
| 黄芩苷组                                 | 12 | 6.81±1.39 <sup>②</sup>  | 45.97±2.42 <sup>②</sup> | 85.32±3.17 <sup>②</sup> |
| pc-NC组                               | 12 | 24.20±2.72              | 29.86±2.13              | 62.70±2.65              |
| 黄芩苷+pc-cGAS组                         | 12 | 21.74±2.60 <sup>③</sup> | 31.59±1.85 <sup>③</sup> | 64.03±2.14 <sup>③</sup> |

注：①与对照组比较，*P* < 0.05；②与模型组比较，*P* < 0.05；③与黄芩苷组比较，*P* < 0.05

**2.2 各组大鼠心肌细胞凋亡率比较** 见图1、表2。对照组大鼠心肌细胞形态正常无凋亡；模型组心肌细胞核皱缩，发生明显凋亡；黄芩苷组大鼠心肌细胞凋亡减轻，细胞形态恢复；pc-NC组大鼠心肌细胞凋亡情况与模型组相似；黄芩苷+pc-cGAS组大鼠心肌细胞凋亡减轻，细胞形态恢复。与对照组比较，模型组大鼠心肌细胞凋亡率显著升高(*P* < 0.05)；与模型组比较，黄芩苷组大鼠心肌细胞凋亡率均降低(*P* < 0.05)，pc-NC组大鼠心肌细胞凋亡率无明显变化(*P* > 0.05)；与黄芩苷组比较，黄芩苷+pc-cGAS组大鼠心肌细胞凋亡率升高(*P* < 0.05)。

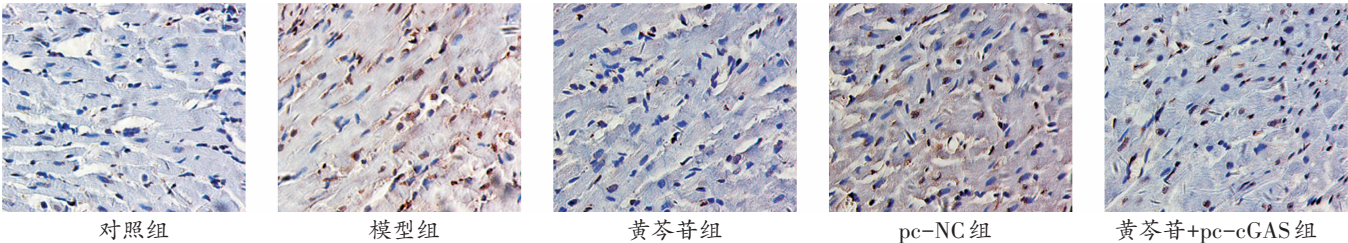


图1 TUNEL染色检测各组大鼠心肌细胞凋亡情况比较(×400)

| 表2 各组大鼠心肌细胞凋亡率比较( $\bar{x} \pm s$ ) |    |                         |
|-------------------------------------|----|-------------------------|
| 组别                                  | 鼠数 | 心肌细胞凋亡率(%)              |
| 对照组                                 | 12 | 4.71±1.30               |
| 模型组                                 | 12 | 30.54±2.96 <sup>①</sup> |
| 黄芩苷组                                | 12 | 5.80±1.38 <sup>②</sup>  |
| pc-NC组                              | 12 | 31.01±2.74              |
| 黄芩苷+pc-cGAS组                        | 12 | 28.42±2.81 <sup>③</sup> |

注：①与对照组比较，*P* < 0.05；②与模型组比较，*P* < 0.05；③与黄芩苷组比较，*P* < 0.05

**2.3 各组大鼠血清心肌损伤标志物水平比较** 见表3。与对照组比较，模型组大鼠血清CK-MB、LDH、cTnI水平显著升高(*P* < 0.05)；与模型组比较，黄芩苷组大鼠血清CK-MB、LDH、cTnI水平均降低(*P* < 0.05)，pc-NC组大鼠血清CK-MB、LDH、cTnI水平无明显变化(*P* > 0.05)；与黄芩苷组比较，黄芩苷+pc-cGAS组大鼠血清CK-MB、LDH、cTnI水平均升高(*P* < 0.05)。

表3 各组大鼠血清心肌损伤标志物水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别           | 鼠数 | CK-MB(kU/L)               | LDH(U/L)                  | cTnI(ng/mL)            |
|--------------|----|---------------------------|---------------------------|------------------------|
| 对照组          | 12 | 32.76±8.34                | 375.65±21.58              | 0.63±0.17              |
| 模型组          | 12 | 147.53±15.82 <sup>①</sup> | 583.42±30.26 <sup>①</sup> | 6.47±0.40 <sup>①</sup> |
| 黄芩苷组         | 12 | 36.81±8.95 <sup>②</sup>   | 384.11±20.96 <sup>②</sup> | 0.70±0.91 <sup>②</sup> |
| pc-NC组       | 12 | 148.13±16.02              | 584.12±29.57              | 6.52±0.43              |
| 黄芩苷+pc-cGAS组 | 12 | 140.94±15.43 <sup>③</sup> | 572.78±31.45 <sup>③</sup> | 6.34±0.37 <sup>③</sup> |

注: ①与对照组比较,  $P < 0.05$ ; ②与模型组比较,  $P < 0.05$ ; ③与黄芩苷组比较,  $P < 0.05$

**2.4 各组大鼠血清炎症指标水平比较** 见表4。与对照组比较, 模型组大鼠血清CRP、IL-18、TNF- $\alpha$ 水平显著升高( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 黄芩苷组大鼠血清CRP、IL-18、TNF- $\alpha$ 水平均降低( $P < 0.05$ ), pc-NC组大鼠血清CRP、IL-18、TNF- $\alpha$ 水平无明显变化( $P > 0.05$ ); 与黄芩苷组比较, 黄芩苷+pc-cGAS组大鼠血清CRP、IL-18、TNF- $\alpha$ 水平均升高( $P < 0.05$ )。

表4 各组大鼠血清炎症指标水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别           | 鼠数 | CRP( $\mu$ g/mL)          | IL-18(pg/mL)             | TNF- $\alpha$ (pg/mL)     |
|--------------|----|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
| 对照组          | 12 | 42.79±7.32                | 25.63±7.10               | 60.79±8.16                |
| 模型组          | 12 | 116.54±12.76 <sup>①</sup> | 93.48±12.32 <sup>①</sup> | 135.43±17.32 <sup>①</sup> |
| 黄芩苷组         | 12 | 46.83±7.51 <sup>②</sup>   | 29.12±6.95 <sup>②</sup>  | 65.08±8.93 <sup>②</sup>   |
| pc-NC组       | 12 | 118.25±13.52              | 94.76±13.04              | 136.10±16.54              |
| 黄芩苷+pc-cGAS组 | 12 | 109.82±12.45 <sup>③</sup> | 87.01±12.71 <sup>③</sup> | 129.05±15.78 <sup>③</sup> |

注: ①与对照组比较,  $P < 0.05$ ; ②与模型组比较,  $P < 0.05$ ; ③与黄芩苷组比较,  $P < 0.05$

**2.5 各组大鼠心肌组织炎症指标水平比较** 见表5。与对照组比较, 模型组大鼠心肌组织CRP、IL-18、TNF- $\alpha$ 水平显著升高( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 黄芩苷组大鼠心肌组织CRP、IL-18、TNF- $\alpha$ 水平均降低( $P < 0.05$ ), pc-NC组大鼠心肌组织CRP、IL-18、TNF- $\alpha$ 水平无明显变化( $P > 0.05$ ); 与黄芩苷组比较, 黄芩苷+pc-cGAS组大鼠心肌组织CRP、IL-18、TNF- $\alpha$ 水平均升高( $P < 0.05$ )。

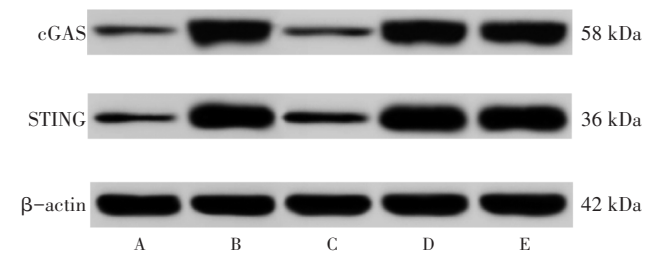
**2.6 各组大鼠心肌组织cGAS-STING通路相关蛋白表达比较** 见图2、表6。模型组大鼠心肌组织cGAS与STING蛋白表达较对照组增强, 黄芩苷组cGAS与STING蛋白表达较模型组降低, pc-NC组cGAS与STING蛋白表达与模型组相似, 黄芩苷+pc-cGAS组cGAS与STING蛋白表达较黄芩苷组增强。与对照组比较, 模型组大鼠心肌组织cGAS-STING蛋白表达升

高( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 黄芩苷组大鼠心肌组织cGAS与STING蛋白表达均降低( $P < 0.05$ ), pc-NC组大鼠心肌组织cGAS与STING蛋白表达无明显变化( $P > 0.05$ ); 与黄芩苷组比较, 黄芩苷+pc-cGAS组大鼠心肌组织cGAS与STING蛋白表达均升高( $P < 0.05$ )。

表5 各组大鼠心肌组织炎症指标水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别           | 鼠数 | CRP( $\mu$ g/mgPro)       | IL-18(pg/mgPro)           | TNF- $\alpha$ (pg/mgPro)  |
|--------------|----|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 对照组          | 12 | 63.81±9.74                | 38.62±7.82                | 91.26±14.29               |
| 模型组          | 12 | 170.32±15.86 <sup>①</sup> | 139.86±13.14 <sup>①</sup> | 205.71±22.14 <sup>①</sup> |
| 黄芩苷组         | 12 | 70.13±8.94 <sup>②</sup>   | 42.87±7.91 <sup>②</sup>   | 97.86±14.70 <sup>②</sup>  |
| pc-NC组       | 12 | 171.46±16.01              | 140.12±13.53              | 204.98±23.15              |
| 黄芩苷+pc-cGAS组 | 12 | 161.24±14.79 <sup>③</sup> | 133.01±12.73 <sup>③</sup> | 198.13±21.74 <sup>③</sup> |

注: ①与对照组比较,  $P < 0.05$ ; ②与模型组比较,  $P < 0.05$ ; ③与黄芩苷组比较,  $P < 0.05$ 。



注: A. 对照组; B. 模型组; C. 黄芩苷组; D. pc-NC组; E. 黄芩苷+pc-cGAS组

图2 免疫印迹检测各组大鼠心肌组织cGAS-STING通路蛋白表达

表6 各组大鼠心肌组织cGAS-STING通路相关蛋白表达比较( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别           | 鼠数 | cGAS/ $\beta$ -actin   | STING/ $\beta$ -actin  |
|--------------|----|------------------------|------------------------|
| 对照组          | 12 | 0.17±0.05              | 0.21±0.06              |
| 模型组          | 12 | 1.14±0.11 <sup>①</sup> | 1.19±0.13 <sup>①</sup> |
| 黄芩苷组         | 12 | 0.19±0.06 <sup>②</sup> | 0.23±0.07 <sup>②</sup> |
| pc-NC组       | 12 | 1.15±0.10              | 1.20±0.11              |
| 黄芩苷+pc-cGAS组 | 12 | 1.10±0.12 <sup>③</sup> | 1.16±0.14 <sup>③</sup> |

注: ①与对照组比较,  $P < 0.05$ ; ②与模型组比较,  $P < 0.05$ ; ③与黄芩苷组比较,  $P < 0.05$

### 3 讨论

控制血糖和减轻胰岛素抵抗是临床治疗糖尿病的常用方法, 但不能有效改善DCM引发的心肌不可逆损伤, 截至目前临床中还没有针对心肌损伤的特效药物, 大部分糖尿病患者均不可避免地发生心

功能障碍,甚至心力衰竭,因此寻找更有针对性且有效的治疗方法来减轻DCM患者心肌损伤具有重要临床意义<sup>[12-13]</sup>。本研究通过高脂饲料喂养+腹腔注射STZ来构建DCM大鼠模型,结果显示造模大鼠FBG、心肌细胞凋亡率、血清CK-MB、LDH、cTnI、CRP、IL-18与TNF- $\alpha$ 水平、心肌组织CRP、IL-18与TNF- $\alpha$ 水平较对照组大鼠显著升高,IVRT、EF显著降低,表明高脂饲料喂养+腹腔注射STZ可引发大鼠血糖升高,触发大鼠心肌炎症及心肌细胞凋亡,造成心肌损伤及心功能障碍,提示DCM大鼠模型构建成功,且大鼠出现与DCM患者相似的心肌损伤症状。

高血糖引发的代谢紊乱、胰岛素抵抗、心肌细胞变性凋亡、心肌肥大等是DCM心肌损伤的触发因素,糖尿病相关炎症在其中发挥着关键作用,针对心肌炎症进行治疗是缓解DCM心肌损伤症状的有效策略<sup>[14-15]</sup>。根据DCM临床表现,将其归属于中医学胸痹、心悸、消渴等范畴,中消患者,多因食辛辣、肥甘厚味等食物,导致脾胃湿热,热毒内蕴,瘀热互结而发本病。黄芩具有清热燥湿、泻火解毒之功效,切合DCM之病机,可用于DCM的治疗。黄芩苷是从黄芩中提取的天然黄酮类化合物,现代药理学研究表明其具有降糖、消炎、减轻脂毒性等多种生物活性<sup>[16]</sup>,还能显著抑制心肌缺血再灌注大鼠心肌细胞凋亡与心肌损伤,并改善其心功能<sup>[17]</sup>。因此,基于中西医理论推测黄芩苷可能对DCM具有显著治疗作用。本文结果显示,以黄芩苷干预DCM大鼠,可降低其FBG、心肌细胞凋亡率、血清CK-MB、LDH、cTnI、CRP、IL-18与TNF- $\alpha$ 水平、心肌组织CRP、IL-18与TNF- $\alpha$ 水平,并升高其IVRT、EF,表明黄芩苷可明显降低DCM大鼠血糖与炎症因子表达分泌水平,进而抑制其心肌炎症与心肌细胞凋亡,减轻其心功能障碍症状,揭示黄芩苷在DCM的临床治疗中具有一定的研发应用前景。

cGAS-STING信号通路对于消除入侵病原体和维持免疫稳态至关重要,其过度激活可触发先天免疫紊乱,进而引发机体炎症,继而导致炎症性疾病的发生及进展<sup>[18]</sup>。在糖尿病小鼠心肌缺血再灌注过程中,cGAS-STING通路被损伤的线粒体DNA激活,进而加剧其心肌损伤,对STING进行抑制可显著减轻糖尿病小鼠心肌缺血再灌注损伤<sup>[19]</sup>,阻断cGAS-STING信号传导可减轻DCM小鼠心脏炎症、心肌细胞焦亡

和心肌肥大<sup>[20]</sup>。本研究结果显示,DCM大鼠心肌组织cGAS-STING通路相关蛋白表达较正常大鼠显著升高,以黄芩苷干预可明显减弱cGAS与STING蛋白上述变化,表明cGAS-STING信号参与介导黄芩苷对DCM大鼠炎症反应的抑制作用;以黄芩苷干预DCM大鼠的同时过表达cGAS,可减弱黄芩苷单独干预对DCM大鼠血糖与炎症因子表达水平的降低作用,拮抗其对DCM大鼠心肌炎症与心肌细胞凋亡的抑制作用,逆转其对DCM大鼠心功能障碍的改善作用,提示黄芩苷抑制DCM大鼠炎症反应是通过降低cGAS表达实现的。

综上所述,黄芩苷可通过降低cGAS、STING蛋白表达,降低DCM大鼠血糖水平,减少炎症因子分泌,进而抑制炎症反应,减轻其心肌细胞凋亡及心功能损伤;而阻止cGAS-STING信号激活可能是黄芩苷发挥上述心脏保护作用的药理机制之一。

## [参考文献]

- [1] PENG C, ZHANG Y, LANG X, et al. Role of mitochondrial metabolic disorder and immune infiltration in diabetic cardiomyopathy: new insights from bioinformatics analysis[J]. J Transl Med, 2023, 21(1): 66-83.
- [2] KE J, PAN J, LIN H, et al. Diabetic cardiomyopathy: a brief summary on lipid toxicity[J]. ESC Heart Fail, 2023, 10(2): 776-790.
- [3] SANGANALMATH S K, DUBEY S, VEERANKI S, et al. The interplay of inflammation, exosomes and Ca<sup>2+</sup> dynamics in diabetic cardiomyopathy[J]. Cardiovasc Diabetol, 2023, 22(1): 37-58.
- [4] CHEN D, RUAN X, LIU Y, et al. HMGCS2 silencing attenuates high glucose-induced in vitro diabetic cardiomyopathy by increasing cell viability, and inhibiting apoptosis, inflammation, and oxidative stress[J]. Bioeng, 2022, 13(5): 11417-11429.
- [5] HONG Z, MA T, LIU X, et al. cGAS-STING pathway: post-translational modifications and functions in sterile inflammatory diseases[J]. FEBS J, 2022, 289(20): 6187-6208.
- [6] WAN X, TIAN J, HAO P, et al. The cGAS-STING Pathway: A Ubiquitous Checkpoint Perturbing Myocardial Attributes[J]. Curr Vasc Pharmacol, 2023, 21(3): 152-162.
- [7] MA X M, GENG K, LAW B Y, et al. Lipotoxicity-induced mtDNA release promotes diabetic cardiomyopathy by activating the cGAS-STING pathway in obesity-related diabetes[J]. Cell Biol Toxicol, 2023, 39(1): 277-299.
- [8] OU Y, ZHANG W, CHEN S, et al. Baicalin improves podocyte injury in rats with diabetic nephropathy by inhibiting PI3K/Akt/mTOR signaling pathway[J]. Open Med (Wars), 2021, 16(1): 1286-

- 1298.
- [9] XU M, LI X, SONG L, et al. Baicalin regulates macrophages polarization and alleviates myocardial ischaemia/reperfusion injury via inhibiting JAK/STAT pathway[J]. *Pharm Biol*, 2020, 58(1): 655-663.
- [10] 高凤威, 江梦颖, 张欣怡, 等. 黄芩苷对小鼠巨噬细胞干扰素基因刺激因子通路活化的影响[J]. *江苏大学学报(医学版)*, 2020, 30(5): 418-422.
- [11] 武春艳, 汪剑英, 曾海燕, 等. 抗菌肽LL-37对糖尿病心肌病大鼠心肌损伤的保护作用及其机制[J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2022, 48(2): 399-406.
- [12] LEZOUALC'H F, BADIMON L, BAKER H, et al. Diabetic cardiomyopathy: the need for adjusting experimental models to meet clinical reality[J]. *Cardiovasc Res*, 2023, 119(5): 1130-1145.
- [13] HUO J L, FENG Q, PAN S, et al. Diabetic cardiomyopathy: Early diagnostic biomarkers, pathogenetic mechanisms, and therapeutic interventions[J]. *Cell Death Discov*, 2023, 9(1): 256-264.
- [14] ELIA E, MINISTRINI S, CARBONE F, et al. Diabetic cardiomyopathy and inflammation: development of hostile microenvironment resulting in cardiac damage[J]. *Minerva Cardiol Angiol*, 2022, 70(3): 357-369.
- [15] SUN Q, GUO W, YUE T, et al. NLRP3 inflammasome mechanism and therapeutic targets in diabetic cardiomyopathy[J]. *Gac Med Mex*, 2023, 159(3): 255-261.
- [16] WANG M J, YANG C H, JIN Y, et al. Baicalin Inhibits Cocksackievirus B3 Replication by Reducing Cellular Lipid Synthesis[J]. *Am J Chin Med*, 2020, 48(1): 143-160.
- [17] LIU X, ZHANG S, XU C, et al. The Protective of Baicalin on Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury[J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2020, 21(13): 1386-1393.
- [18] CHEN K, LAI C, SU Y, et al. cGAS-STING-mediated IFN-I Response in Host Defense and Neuroinflammatory Diseases[J]. *Curr Neuropharmacol*, 2022, 20(2): 362-371.
- [19] 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): 192-213.
- [20] YAN M, LI Y, LUO Q, et al. Mitochondrial damage and activation of the cytosolic DNA sensor cGAS-STING pathway lead to cardiac pyroptosis and hypertrophy in diabetic cardiomyopathy mice[J]. *Cell Death Discov*, 2022, 8(1): 258-269.

(责任编辑: 冯天保, 邓乔丹)