·论著·

米诺环素调节HIF-1α/BNIP3信号通路对慢性心力衰竭大鼠心肌细胞损伤的影响

姜帆[1],周泓屹[2],王飞跃[1],孙源[1],吴广明[1]
(1.首都医科大学附属北京潞河医院全科医学科,北京 101149;2.北京市通州区妇幼保健院麻醉科,北京 101101)

摘要 目的 探讨米诺环素(MC)调节缺氧诱导因子1α(HIF-1α)/B淋巴细胞瘤-2/腺病毒E1B 19-kDa相互作用蛋白(BNIP3)信号通路对慢性心力衰竭(CHF)大鼠心肌细胞损伤的影响。**方法** 将大鼠随机分为假手术组、CHF组、阳性药物(LP)组、MC低剂量(LMC)组、MC高剂量(HMC)组、HMC+HIF-1α激活剂(DMOG)组。采用超声心动图检测心功能;采用HE染色、透射电镜、TUNEL法检测心肌组织病理形态及细胞凋亡情况;采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测肿瘤坏死因子α(TNF-α)、白细胞介素(IL)-1β、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)水平;采用实时定量PCR检测*Bcl-2*、Bcl-2相关X蛋白(*Bax*)mRNA水平;采用Western blotting检测HIF-1α、BNIP3、Beclin-1、微管相关蛋白1轻链3(LC3)蛋白表达。**结果** 与假手术组相比,CHF组大鼠左心室舒张末期内径(LVEDD)、左心室收缩末期内径(LVESD)、细胞凋亡率、TNF-α、IL-1β、MDA、Bax、HIF-1α、BNIP3、Beclin-1、LC3Ⅱ/Ⅰ水平升高,左室射血分数(LVEF)、左心室缩短分数(LVFS)、SOD、Bcl-2水平降低($P < 0.05$);与CHF组相比,LP组、LMC组和HMC组大鼠LVEDD、LVESD、细胞凋亡率、TNF-α、IL-1β、MDA、Bax、HIF-1α、BNIP3、Beclin-1、LC3Ⅱ/Ⅰ水平均降低,LVEF、LVFS、SOD、Bcl-2水平升高($P < 0.05$);DMOG可减弱高剂量MC对CHF大鼠心肌细胞损伤的改善作用($P < 0.05$)。**结论** MC通过抑制HIF-1α/BNIP3信号通路,改善CHF大鼠心肌细胞损伤。

关键词 米诺环素;HIF-1α/BNIP3信号通路;慢性心力衰竭;心肌细胞
中图分类号 R541.6 **文献标志码** A **文章编号** 0258-4646(2025)07-0619-07
网络出版地址 https://link.cnki.net/urlid/21.1227.R.20250704.1634.034
DOI: 10.12007/j.issn.0258-4646.2025.07.008

Minocycline alleviates myocardial cell damage in chronic heart failure rats by regulating the HIF-1α/BNIP3 signaling pathway

JIANG Fan[1],ZHOU Hongyi[2],WANG Feiyue[1],SUN Yuan[1],WU Guangming[1]
(1. Department of General Practice,Beijing Luhe Hospital Affiliated to Capital Medical University,Beijing 101149,China;2. Anesthesiology Department,Beijing Tongzhou District Maternal and Child Health Hospital,Beijing 101101,China)

Abstract Objective To investigate the impact of minocycline (MC) on myocardial cell damage in rats with chronic heart failure (CHF) by regulating the hypoxia-inducible factor 1α (HIF-1α)/B-cell lymphoma-2/adenovirus E1B 19-kDa interacting protein (BNIP3). **Methods** All rats were randomly divided into Sham,CHF,positive drug (LP),low dose MC,high dose MC (HMC),and HMC+HIF-1α activator (DMOG) groups. Cardiac function was detected using echocardiography. HE staining,transmission electron microscopy,and TUNEL assay were used to evaluate myocardial pathology and apoptosis. Enzyme-linked immunosorbent assay was applied to quantify tumor necrosis factor α (TNF-α),interleukin-1β,superoxide dismutase (SOD),and malondialdehyde (MDA). Quantitative real-time PCR was used to detect the mRNA levels of *Bcl-2* and Bcl-2-related X protein (*Bax*),while Western blotting was applied to detect the expression of HIF-1α,BNIP3,Beclin-1,and microtubule-associated protein 1 light chain 3 (LC3) proteins. **Results** Compared to rats in the sham group,rats from the CHF group exhibited increased left ventricular end-diastolic diameter (LVEDD),left ventricular end-systolic diameter (LVESD),cell apoptosis rate,TNF-α,IL-1β,MDA,Bax,HIF-1α,BNIP3,Beclin-1,and LC3Ⅱ/Ⅰ with decreased left ventricular ejection fraction (LVEF),left ventricular shortening fraction (LVFS),SOD,and Bcl-2 levels ($P < 0.05$). Compared with CHF group,rats from LP group,LMC group and HMC group exhibited decreased levels of LVEDD,LVESD,apoptosis rate,TNF-α,IL-1β,MDA,Bax,HIF-1α,BNIP3,Beclin-1,LC3Ⅱ/Ⅰ,and increased levels of LVEF,LVFS,SOD and Bcl-2 ($P < 0.05$). DMOG attenuated the protective effect of high-dose MC on myocardial cell damage in rats of the CHF group ($P < 0.05$). **Conclusion** MC improves myocardial cell damage in rats of CHF group by inhibiting the HIF-1α/BNIP3 signaling pathway.

Keywords minocycline; HIF-1α/BNIP3 signaling pathway; chronic heart failure; myocardial cell

基金项目:首都卫生发展全科医学与社区卫生科研专项(2023-2Y-014)
作者简介:姜帆(1985-),女,副主任医师,硕士.
通信作者:吴广明,E-mail:llyyqkyxk@mail.ccmu.edu.cn
收稿日期:2024-08-07
网络出版时间:2025-07-07 10:06:37

慢性心力衰竭（chronic heart failure，CHF）是由心脏舒张或收缩受损引起的临床综合征，其特征为心脏的结构和功能异常导致静息或运动时心内压力升高和心输出量不足[1]。缺氧诱导因子1α（hypoxia-inducible factor 1α，HIF-1α）是重要的转录因子，能够调节缺氧条件下哺乳动物细胞的存活[2]。B淋巴细胞瘤-2/腺病毒E1B 19-kDa相互作用蛋白（B-cell lymphoma-2/adenovirus E1B 19-kDa interacting protein，*BNIP3*）是HIF-1α下游的关键基因，参与细胞死亡和线粒体自噬，与心脏疾病发病机制有关。研究[3]发现，在心肌缺血再灌注损伤过程中，BNIP3受到HIF-1α调节，改变了线粒体通透性并促进自噬，从而减轻心肌细胞损伤。米诺环素（minocycline，MC）是一种具有抗炎、免疫调节和抗氧化潜力的四环素衍生物，其在治疗神经系统疾病、免疫系统疾病、心血管疾病等方面具有良好的应用前景[4]。MC能够通过抑制神经炎症改善心肌梗死大鼠心力衰竭及其抑郁样行为[5]。但MC在CHF的具体机制尚未明确。因此，本研究旨在探讨MC是否能够通过调控HIF-1α/BNIP3信号通路缓解CHF大鼠的心肌细胞损伤。

1　材料与方法

1.1　主要仪器

奥林巴斯CX23光学显微镜购自上海普赫光电科技有限公司，SpectraMax iD5多功能酶标仪购自美谷分子仪器（上海）有限公司，ckx53倒置荧光显微镜购自上海远耀生物科技有限公司，伯乐CFX96荧光定量PCR仪、全新凝胶成像系统-GelDoc Go购自伯乐生命医学产品（上海）有限公司。

1.2　主要药品与试剂

MC购自西安利君制药有限责任公司；氯沙坦钾（losartan potassium tablets，LP）购自上海新黄河制药有限公司；二甲基草酰甘氨酸（dimethyloxallyl glycine，DMOG）购自美国MedChemExpress公司；HE染液购自武汉纯度生物科技有限公司；TUNEL细胞凋亡检测试剂盒、白细胞介素-1β（interleukin-1β，IL-1β）及肿瘤坏死因子α（tumor necrosis factor α，TNF-α）ELISA检测试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司；超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）及丙二醛（malondialdehyde，MDA）检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所；实时定量PCR试剂盒购自维森特生物技术（南京）有限公司；HIF-1α、BNIP3、Beclin-1兔单抗、微管相关蛋白1轻链3（microtubule-associated protein 1 light chain 3，LC3）、β-actin兔多抗购自英国abcam公司；辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG购自北京索莱宝科技有限公司。

1.3　实验动物

85只SPF级SD大鼠由湖南斯莱克景达实验动物有限公司［许可证号：SCXK SCXK（湘）2019-0004］提供，均为雄性，体重（160 ± 20）g。在温度24~26 ℃、湿度50%~60%的环境中饲养。本研究经首都医科大学附属北京潞河医院医学伦理委员会批准，批准号为2024LH-KY-004。

1.4　方法

1.4.1　建立CHF大鼠模型：用1%戊巴比妥钠（40 mg/kg）麻醉85只大鼠，通过动物呼吸机对大鼠进行气管内插管，腹部消毒后在胸骨上窝处做切口。其中73只大鼠需分离腹主动脉，将外径约为0.9 mm的“L”型调节针在导丝的引导下送至主动脉，确保“L”型调节针的短臂与主动脉壁贴合，在右侧颈总动脉和左侧颈总动脉之间进行结扎，小心取出针头，形成主动脉缩窄，缝合伤口。术后肌肉注射青霉素（1次/d），连续3 d。剩余12只大鼠在腹部做切口后立即缝合，不进行缩窄手术，作为假手术组。4周后，经超声检测有60只造模大鼠的左室射血分数（left ventricular ejection fraction，LVEF）<50%，表示大鼠CHF模型复制成功，造模成功率约为82%[6]。

1.4.2　分组和给药：将造模成功的大鼠随机分为CHF组、阳性药物（LP）组、MC低剂量（LMC）组、MC高剂量（HMC）组、HMC+HIF-1α激活剂（DMOG）组，每组12只。LP组灌胃40 mg/kg LP[7]，LMC组和HMC组分别灌胃25 mg/kg、50 mg/kg MC[5]，HMC+DMOG组先灌胃50 mg/kg MC，再腹膜内注射1 mg/kg HIF-1α激活剂DMOG[8]。假手术组和CHF组大鼠灌胃或注射等量生理盐水。1次/d，持续4周。

1.4.3　心功能指标检测：末次给药结束后，麻醉大鼠（1%戊巴比妥钠）并将其置于仰卧位，用M型超声心动图检测3个连续心动周期，记录舒张末期容积（end-diastolic volume，EDV）和收缩末期容积（end- systolic volume，ESV）、左心室舒张末内径（left ventricular end-diastolic diameter，LVEDD）、左心室

收缩末期内径（left ventricular end-systolic diameter，LVESD），并计算左心室短轴缩短率（left ventricular shortening fraction，LVFS）和LVEF。LVFS=（LVEDD−LVESD）/LVEDD × 100%，LVEF=（EDV−ESV）/EDV × 100%。

1.4.4　HE染色检测大鼠心肌组织病理学形态：心功能检测结束后，处死所有大鼠摘取心脏并分离左右心室。每组取6只大鼠左心室置于4%多聚甲醛中固定，剩余组织均保存于−80 ℃备用。将固定过夜的组织进行石蜡包埋并切片，脱蜡水化后用苏木素和伊红分别染色，再用乙醇、二甲苯进行脱水、透明，最后封片。显微镜观察心肌组织形态变化。

1.4.5　ELISA检测大鼠心肌组织中TNF-α、IL-1β、SOD、MDA水平：取冻存的6只大鼠的左心室，加入PBS研磨匀浆，于4 ℃ 10 000 r/min 离心15 min，收集上清液。按照ELISA试剂盒操作步骤测定TNF-α、IL-1β、SOD、MDA水平。

1.4.6　TUNEL法检测大鼠心肌细胞的凋亡情况：取左心室石蜡切片进行脱蜡水化，利用TUNEL检测试剂盒中的蛋白酶K浸泡组织切片，并在37 ℃下孵育20 min，PBS冲洗后，加入50 μL TUNEL工作液，37 ℃避光孵育1 h。PBS再次清洗后加入DAPI染色5 min，最后用中性树脂封片，在荧光显微镜下观察拍照，并计算细胞凋亡率。

1.4.7　透射电镜观察大鼠心肌组织的超微结构：将大鼠心肌组织切片（1 mm^3）迅速固定在2.5%戊二醛中，然后再将其固定于1%四氧化锇中，用梯度乙醇脱水，并包埋在硬树脂中。使用超薄切片机切成超薄切片（厚度80 nm），分别用乙酸铀酰和柠檬酸铅对切片进行染色，在透射电镜下观察大鼠心肌组织的线粒体形态和自噬体。

1.4.8　实时定量PCR检测大鼠心肌组织中*Bax*、*Bcl-2*、*caspase-3* mRNA表达水平：取冻存的6只大鼠的右心室，用TRIzol法提取总RNA，然后以RNA为模板，利用一步法实时定量PCR试剂盒配制20 μL的总反应体系，并根据试剂盒说明书设定反应程序进行扩增。以*β-actin*为内参，采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算mRNA的相对表达量，引物序列如下：*Bax*，正向5'-ATGGAGCTGCAGAGGATGA-3'，反向5'-CCAGTTTGCTAGCAAAGTAG-3'；*Bcl-2*，正向5'-GAGGATTGTGGCCTTCTTTG-3'，反向5'-AGGTACTCAGTCATCCACA-3'；*caspase-3*，正向5'-GTGGAACTGACGATGATATGGC-3'，反向5'-CGCAAAGTGACTGGATGAACC-3'；*β-actin*，正向5'-AAGATCCTGACCGAGCGTGG -3'，反向5'-CAGCACTGTGTTGGCATAGAGG-3'。

1.4.9　Western blotting检测大鼠心肌组织中HIF-1α、BNIP3、Beclin-1、LC3蛋白表达：取出剩余的右心室，加入RIPA蛋白裂解液置于冰上裂解匀浆，12 000 r/min离心15 min，取上清液，用BCA试剂盒测定蛋白浓度，并将提取的蛋白煮沸变性。然后用SDS-PAGE凝胶分离蛋白质，并湿转至PVDF膜。将膜用5%脱脂牛奶在室温下封闭1 h，随后与一抗稀释液（HIF-1α、BNIP3、Beclin-1、LC3、β-actin，比例1 ∶ 1 000）在4 ℃下孵育过夜，再与山羊抗兔IgG二抗稀释液（1 ∶ 500）在室温下孵育2 h，最后ECL避光显影10 min。在凝胶成像仪中观察条带，并以β-actin为内参，采用ImageJ软件分析蛋白表达水平。

1.5　统计学分析

采用GraphPad Prism 9.0软件进行统计分析，计量资料以$\bar{x} \pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较用Tukey's分析，$P < 0.05$为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　MC对CHF大鼠心功能的影响

与假手术组相比，CHF组LVEF、LVFS降低，LVEDD、LVESD升高（$P < 0.05$）；LP组、LMC组和HMC组LVEF、LVFS较CHF组升高，LVEDD、LVESD较CHF组降低（$P < 0.05$）；HMC+DMOG组LVEF、LVFS明显低于HMC组，LVEDD、LVESD明显高于HMC组（$P < 0.05$），见表1。

2.2　MC对CHF大鼠心肌组织病理形态

HE染色结果显示，假手术组心肌组织无明显损伤；CHF组心肌组织中细胞排列无序，且部分细胞出现肿胀，并伴有炎症细胞浸润；LP组、LMC组和HMC组心肌组织中细胞排列较规则，细胞肿胀减轻，炎症细胞浸润减少；HMC+DMOG组心肌细胞损伤形态与CHF组较为相似，见图1。

2.3　MC对CHF大鼠心肌组织中TNF-α、IL-1β、SOD、MDA水平的影响

CHF组心肌组织中TNF-α、IL-1β、MDA水平较假手术组升高，SOD水平较假手术组降低（$P < 0.05$）；

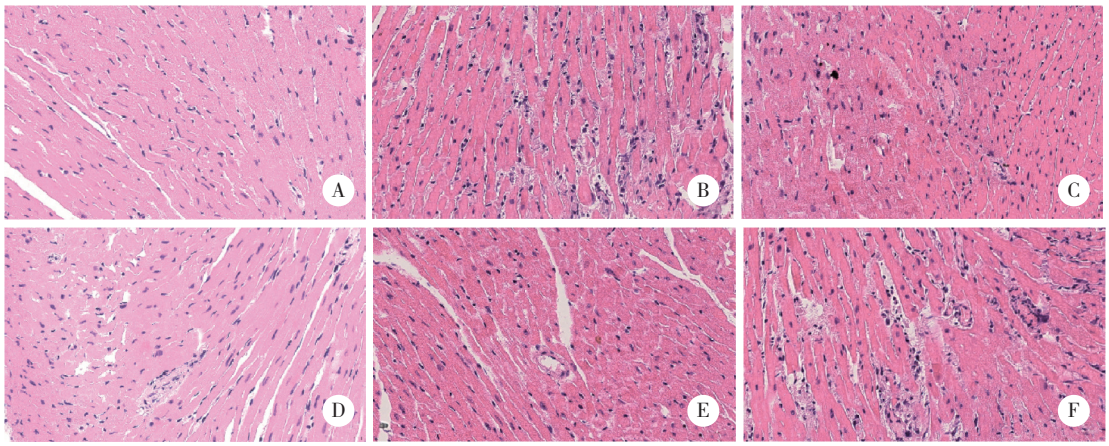
LP组、LMC组和HMC组TNF-α、IL-1β、MDA水平较CHF组降低，SOD水平较CHF组升高（$P<0.05$）；HMC+DMOG组TNF-α、IL-1β、MDA水平明显高于HMC组，SOD水平明显低于HMC组（$P<0.05$），见表2。

表1　各组心功能指标比较（$\bar{x}\pm s$，$n=12$）

Tab.1　Comparison of cardiac function indices in each group（$\bar{x}\pm s$，$n=12$）

Group	LVEF（%）	LVFS（%）	LVEDD（mm）	LVESD（mm）
Sham	83.67 ± 5.45	55.92 ± 3.65	2.87 ± 0.28	1.26 ± 0.07
CHF	32.33 ± 2.71[1)]	28.42 ± 1.73[1)]	6.25 ± 0.62[1)]	4.47 ± 0.39[1)]
LP	73.25 ± 4.81[2)]	46.17 ± 3.30[2)]	3.53 ± 0.31[2)]	1.92 ± 0.17[2)]
LMC	56.83 ± 3.54[2),3)]	35.92 ± 2.75[2),3)]	5.06 ± 0.45[2),3)]	3.24 ± 0.14[2),3)]
HMC	73.58 ± 4.89[2)]	43.33 ± 3.45[2)]	3.58 ± 0.32[2)]	2.03 ± 0.12[2)]
HMC+DMOG	38.33 ± 2.81[2),4)]	27.42 ± 1.83[2),4)]	5.71 ± 0.56[2),4)]	4.14 ± 0.16[2),4)]

1）$P<0.05$ vs. sham group；2）$P<0.05$ vs. CHF group；3）$P<0.05$ vs. LP group；4）$P<0.05$ vs. HMC group.



A，sham group；B，CHF group；C，LP group；D，LMC group；E，HMC group；F，HMC+DMOG group.

图1　HE染色检测各组心肌组织的病理形态　×400

Fig.1　HE staining was performed to detect the pathological morphology of myocardial tissue in each group　×400

表2　各组心肌组织中TNF-α、IL-1β、SOD、MDA水平（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

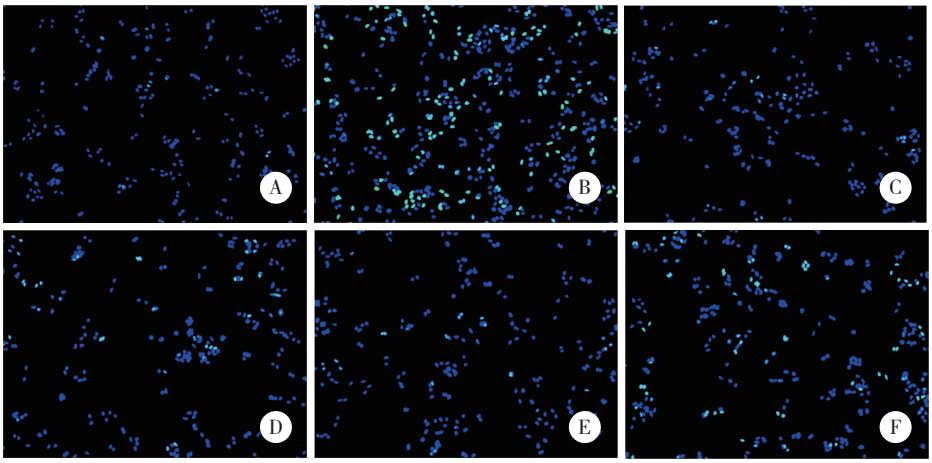
Tab.2　Levels of TNF-α，IL-1β，SOD and MDA in myocardial tissue in each group（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

Group	TNF-α（pg/mL）	IL-1β（pg/mL）	SOD（U/mL）	MDA（ng/mL）
Sham	52.64 ± 4.38	72.48 ± 9.26	54.93 ± 3.62	3.25 ± 0.23
CHF	162.48 ± 12.53[1)]	214.69 ± 24.57[1)]	16.87 ± 1.76[1)]	7.25 ± 0.47[1)]
LP	71.34 ± 5.47[2)]	87.53 ± 9.12[2)]	47.54 ± 3.37[2)]	4.12 ± 0.28[2)]
LMC	127.56 ± 16.64[2),3)]	168.37 ± 18.35[2),3)]	30.15 ± 2.63[2),3)]	5.37 ± 0.34[2),3)]
HMC	72.80 ± 5.58[2)]	89.14 ± 6.35[2)]	46.83 ± 3.14[2)]	4.14 ± 0.25[2)]
HMC+DMOG	145.82 ± 15.57[2),4)]	196.46 ± 18.57[2),4)]	23.76 ± 2.31[2),4)]	6.43 ± 0.42[2),4)]

1）$P<0.05$ vs. sham group；2）$P<0.05$ vs. CHF group；3）$P<0.05$ vs. LP group；4）$P<0.05$ vs. HMC group.

2.4　MC对CHF大鼠心肌细胞凋亡的影响

CHF组心肌细胞凋亡率（47.77% ± 5.29%）较假手术组（2.58% ± 0.15%）升高（$P<0.05$）；LP组、LMC组和HMC组细胞凋亡率分别为10.83% ± 1.12%、28.69% ± 3.54%、11.05% ± 1.23%，与CHF组比较显著降低（$P<0.05$）；HMC+DMOG组心肌细胞凋亡率（38.47% ± 4.89%）较HMC组明显升高（$P<0.05$），见图2。



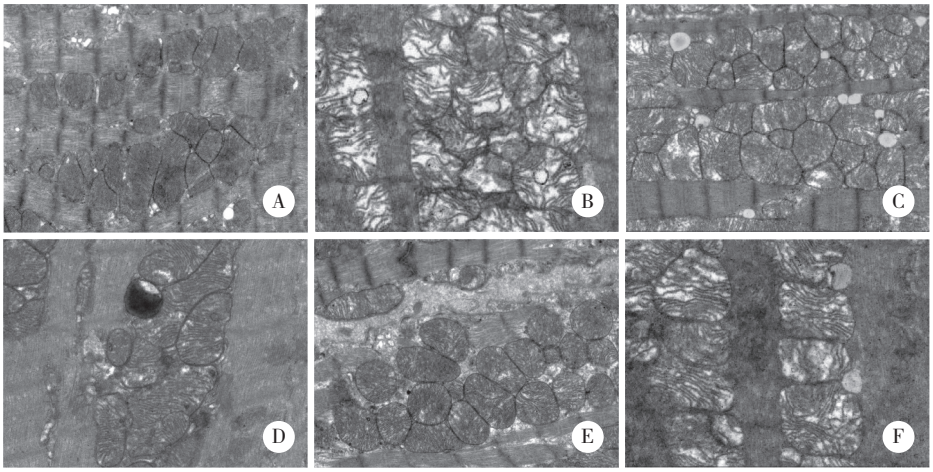
A, sham group; B, CHF group; C, LP group; D, LMC group; E, HMC group; F, HMC+DMOG group.

图2　TUNEL法检测各组心肌细胞的凋亡　×400

Fig.2　TUNEL assay used to detect the apoptosis of myocardial cells in each group　×400

2.5　MC对CHF大鼠心肌组织线粒体自噬的影响

假手术组线粒体结构正常，CHF组心肌组织中线粒体结构受损，自噬体数量增加；LP组、LMC组和HMC组心肌组织中线粒体结构恢复，自噬体数量减少；HMC+DMOG组心肌组织线粒体结构受损，自噬体数量增加，见图3。



A, sham group; B, CHF group; C, LP group; D, LMC group; E, HMC group; F, HMC+DMOG group.

图3　透射电镜检测各组心肌组织线粒体自噬情况　×20 000

Fig.3　Mitochondrial autophagy in the myocardial tissue of rats in each group using transmission electron microscope　×20 000

2.6　MC对CHF大鼠心肌组织中*Bax*、*Bcl-2*、*caspase-3* mRNA表达水平的影响

CHF组心肌组织中*Bax*、*caspase-3*表达水平较假手术组升高，*Bcl-2*水平较假手术组降低（$P<0.05$）；LP组、LMC组和HMC组*Bax*、*caspase-3*表达水平较CHF组降低，*Bcl-2*表达水平较CHF组升高（$P<0.05$）；HMC+DMOG组*Bax*、*caspase-3*表达水平较HMC组升高，*Bcl-2*表达水平较HMC组降低（$P<0.05$），见表3。

2.7　MC对CHF大鼠心肌组织中HIF-1α、BNIP3、Beclin-1、LC3蛋白表达的影响

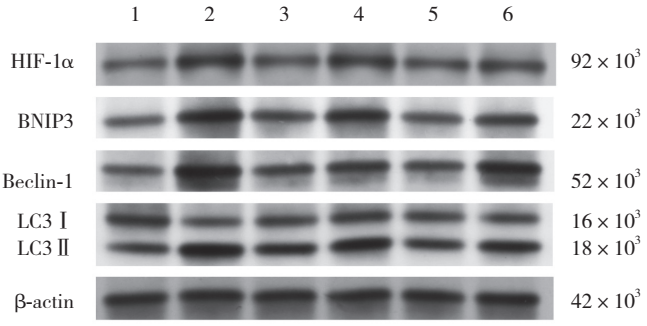
CHF组心肌组织中HIF-1α、BNIP3、Beclin-1、LC3Ⅱ/Ⅰ表达较假手术组升高（$P<0.05$）；LP组、LMC组和HMC组HIF-1α、BNIP3、Beclin-1、LC3Ⅱ/Ⅰ表达较CHF组降低（$P<0.05$）；HMC+DMOG组HIF-1α、BNIP3、Beclin-1、LC3Ⅱ/Ⅰ表达较HMC组升高（$P<0.05$），见图4、表4。

表3　各组心肌组织中*Bax*、*Bcl-2* mRNA水平（$\bar{x} \pm s$，$n = 3$）

Tab.3　Levels of *Bax* and *Bcl-2* mRNA in the myocardial tissue in each group（$\bar{x} \pm s$，$n = 3$）

Group	*Bax* mRNA	*Bcl-2* mRNA	*Caspase-3* mRNA
Sham	0.98 ± 0.12	1.03 ± 0.18	1.02 ± 0.09
CHF	1.91 ± 0.14[1)]	0.35 ± 0.03[1)]	2.15 ± 0.17[1)]
LP	1.21 ± 0.08[2)]	0.89 ± 0.05[2)]	1.28 ± 0.10[2)]
LMC	1.45 ± 0.11[2),3)]	0.58 ± 0.08[2),3)]	1.63 ± 0.22[2),3)]
HMC	1.25 ± 0.15[2)]	0.88 ± 0.06[2)]	1.32 ± 0.18[2)]
HMC+DMOG	1.67 ± 0.26[2),4)]	0.46 ± 0.09[2),4)]	1.96 ± 0.42[2),4)]

1）$P < 0.05$ vs. sham group；2）$P < 0.05$ vs. CHF group；3）$P < 0.05$ vs. LP group；4）$P < 0.05$ vs. HMC group.



1，sham group；2，CHF group；3，LP group；4，LMC group；5，HMC group；6，HMC+DMOG group.

图4　各组心肌组织中HIF-1α、BNIP3、Beclin-1、LC3蛋白表达情况

Fig.4　Protein expression of HIF-1α，BNIP3，Beclin-1 and LC3 in myocardial tissue in each group

表4　各组心肌组织中HIF-1α、BNIP3、Beclin-1、LC3 Ⅱ / Ⅰ蛋白相对表达量（$\bar{x} \pm s$，$n = 3$）

Tab.4　Relative expressions of HIF-1α，BNIP3，Beclin-1 and LC3 Ⅱ / Ⅰ proteins in myocardial tissue in each group（$\bar{x} \pm s$，$n = 3$）

Group	HIF-1α/β-actin	BNIP3/β-actin	Beclin-1/β-actin	LC3 Ⅱ / Ⅰ
Sham	0.87 ± 0.13	0.93 ± 0.15	0.79 ± 0.11	0.82 ± 0.13
CHF	1.92 ± 0.23[1)]	2.14 ± 0.35[1)]	1.89 ± 0.27[1)]	2.01 ± 0.29[1)]
LP	1.12 ± 0.13[2)]	1.19 ± 0.15[2)]	1.04 ± 0.08[2)]	1.12 ± 0.07[2)]
LMC	1.46 ± 0.23[2),3)]	1.62 ± 0.31[2),3)]	1.47 ± 0.26[2),3)]	1.51 ± 0.18[2),3)]
HMC	1.13 ± 0.08[2)]	1.21 ± 0.10[2)]	1.05 ± 0.06[2)]	1.12 ± 0.08[2)]
HMC+DMOG	1.68 ± 0.26[2),4)]	1.87 ± 0.27[2),4)]	1.67 ± 0.23[2),4)]	1.71 ± 0.19[2),4)]

1）$P < 0.05$ vs. sham group；2）$P < 0.05$ vs. CHF group；3）$P < 0.05$ vs. LP group；4）$P < 0.05$ vs. HMC group.

3　讨论

CHF是心脏不能泵出满足身体需求的血液量而导致的一系列临床症状，包括呼吸困难、虚弱和下肢肿胀，其发病机制和病程复杂多样[9]。研究CHF发病机制对于有效治疗CHF有重要意义。MC是广谱抑菌四环素类抗生素家族的成员之一，除了具有抗菌功能外，还具有抗炎特性。研究[10]显示，MC在心肌缺血再灌注损伤动物模型中发挥保护神经和心脏的功能。本研究建立了CHF大鼠模型，结果显示，CHF组大鼠的LVEF、LVFS降低，LVEDD、LVESD升高，且LVEF低于50%，心肌细胞排列紊乱，且部分肿胀，并伴有炎症细胞浸润，同时炎性细胞因子TNF-α、IL-1β及MDA水平升高，SOD活性降低，提示CHF模型建立成功。而LP和MC干预后，LVEF、LVFS升高，LVEDD、LVESD降低，心肌细胞排列整齐，炎症细胞浸润减少，TNF-α、IL-1β及MDA水平降低，SOD活性升高。提示MC能够有效改善CHF大鼠

的心功能，减轻心肌细胞炎症及氧化应激损伤。此外，在CHF大鼠心肌组织中，心肌细胞凋亡率及Bax、caspase-3水平均升高，Bcl-2水平降低；而LP和MC干预大鼠的心肌细胞凋亡率及Bax、caspase-3水平降低，Bcl-2水平升高，提示MC可通过抑制CHF大鼠心肌细胞凋亡阻止大鼠的心力衰竭。

*HIF-1α*是线粒体重要的靶基因之一，其在常氧条件下迅速降解，但在低氧条件下积累，并促进BNIP3的表达[11]。BNIP3和Beclin-1是Bcl-2基因家族的细胞死亡相关蛋白，BNIP3的表达能够破坏Bcl-2和Beclin-1之间的相互作用，解离Beclin-1并诱导自噬。LC3在自噬过程中被脂质化形成LC3的膜结合形式，即LC3-Ⅱ，LC3-Ⅱ响应自噬体的数量，被认为是自噬激活程度的指示蛋白[11-12]。研究[13]显示，HIF-1α/BNIP3通路介导的自噬在脑缺血再灌注损伤中发挥重要作用。例如，羟基红花黄A通过抑制HIF-1/BNIP3/Notch1通路介导的自噬缓解缺血性脑卒中大鼠的神经元损伤[14]。本研究结果显示，CHF组大鼠心肌组织线粒体结构受损，且出现大量自噬体，HIF-1α、BNIP3、Beclin-1表达及LC3Ⅱ/Ⅰ比值均升高，提示HIF-1α/BNIP3通路在CHF中被激活并诱导过度自噬造成细胞损伤。而LP和MC组大鼠心肌组织中自噬体明显减少，HIF-1α、BNIP3、Beclin-1表达及LC3Ⅱ/Ⅰ比值降低。表明MC可通过阻止HIF-1α/BNIP3通路激活抑制心肌组织自噬。在进一步加入HIF-1α激活剂后发现，MC对CHF大鼠心肌损伤的缓解作用被抑制，提示MC对CHF大鼠心肌组织的保护作用可能与抑制HIF-1α/BNIP3信号通路有关。

综上所述，MC能够通过抑制HIF-1α/BNIP3信号通路减轻CHF大鼠心肌细胞损伤。本研究通过体内实验为CHF的治疗提供了新的药物和理论依据，但MC在体外及临床中对CHF的作用及相关作用机制有待进一步研究。

参考文献：

[1] ZHONG WR，LI YH，ZHONG HX，et al. Exploring the mechanism of anti-chronic heart failure effect of qiweiqiangxin granules based on metabolomics [J]. Front Pharmacol，2023，14：1111007. DOI：10.3389/fphar.2023.1111007.

[2] TANG ZH，XU RF，ZHANG ZH，et al. HIF-1α protects granulosa cells from hypoxia-induced apoptosis during follicular development by inducing autophagy [J]. Front Cell Dev Biol，2021，9：631016. DOI：10.3389/fcell.2021.631016.

[3] YANG L，XIE P，WU JJ，et al. Deferoxamine treatment combined with sevoflurane postconditioning attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by restoring HIF-1/BNIP3-mediated mitochondrial autophagy in GK rats [J]. Front Pharmacol，2020，11：6. DOI：10.3389/fphar.2020.00006.

[4] ESHAGHI GHALIBAF MH，RAJABIAN A，PARVIZ M，et al. Minocycline alleviated scopolamine-induced Amnesia by regulating antioxidant and cholinergic function [J]. Heliyon，2023，9（2）：e13452. DOI：10.1016/j.heliyon.2023.e13452.

[5] WANG HW，AHMAD M，JADAYEL R，et al. Inhibition of inflammation by minocycline improves heart failure and depression-like behaviour in rats after myocardial infarction [J]. PLoS One，2019，14（6）：e0217437. DOI：10.1371/journal.pone.0217437.

[6] WANG LQ，DENG HM，WANG TY，et al. Investigation into the protective effects of hypaconitine and glycyrrhetinic acid against chronic heart failure of the rats [J]. BMC Complement Med Ther，2022，22（1）：160. DOI：10.1186/s12906-022-03632-y.

[7] 刘宇，高玲. 黄芩苷对慢性心肌衰竭大鼠心肌细胞凋亡及相关信号通路表达的影响 [J]. 医学研究生学报，2020，33（6）：577-581. DOI：10.16571/j.cnki.1008-8199.2020.06.004.

[8] ZHANG YN，LIU DW，HU HJ，et al. HIF-1α/BNIP3 signaling pathway-induced-autophagy plays protective role during myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. Biomed Pharmacother，2019，120：109464. DOI：10.1016/j.biopha.2019.109464.

[9] ZHU XH，WANG SR，CHENG YH，et al. Physiological ischemic training improves cardiac function through the attenuation of cardiomyocyte apoptosis and the activation of the vagus nerve in chronic heart failure [J]. Front Neurosci，2023，17：1174455. DOI：10.3389/fnins.2023.1174455.

[10] YI Q，TAN FH，TAN JA，et al. Minocycline protects against myocardial ischemia/reperfusion injury in rats by upregulating MCPIP1 to inhibit NF-κB activation [J]. Acta Pharmacol Sin，2019，40（8）：1019-1028. DOI：10.1038/s41401-019-0214-z.

[11] ZHU FF，GAO J，ZENG FL，et al. Hyperoside protects against cyclophosphamide induced ovarian damage and reduced fertility by suppressing HIF-1α/BNIP3-mediated autophagy [J]. Biomed Pharmacother，2022，156：113743. DOI：10.1016/j.biopha.2022.113743.

[12] ABO EL-ELLA DM. Autophagy/apoptosis induced by geraniol through HIF-1α/BNIP3/beclin-1 signaling pathway in A549 CoCl2 treated cells [J]. Adv Pharm Bull，2022，12（1）：155-162. DOI：10.34172/apb.2022.016.

[13] WANG TJ，LIU C. Role of hypoxia inducible factor 1α/Bcl-2/adenovirus E1B 19-kDa interacting protein 3 in alleviating effect of interleukin-4 on cerebral ischemia reperfusion injury in mice [J]. Afr Health Sci，2022，22（3）：369-374. DOI：10.4314/ahs.v22i3.39.

[14] ZHANG YL，LIU Y，CUI Q，et al. Hydroxysafflor yellow A alleviates ischemic stroke in rats via HIF-1 [formula：see text]，BNIP3，and Notch1-mediated inhibition of autophagy [J]. Am J Chin Med，2022，50（3）：799-815. DOI：10.1142/S0192415X22500331.

（编辑　于　溪）