

DOI: 10.14188/j.1671-8852.2025.0286

文章编号 1671-8852(2026)04-0444-08

辣椒活性成分二氢辣椒素通过 LKB1/AMPK 通路 增强自噬改善高糖诱导的 H9C2 心肌细胞损伤

危小良¹ 卢慧芳¹ 朱 晔¹ 陈柏荣¹ 王珂妹² 柯 晓² 罗 烨³ 翁建新³

¹中山大学附属第五医院 广东 珠海 519000;

²中国医学科学院阜外医院深圳医院 广东 深圳 518057;

³北京大学深圳医院 广东 深圳 518057

摘要 目的:探讨辣椒治疗糖尿病心肌病(DCM)的核心成分、关键靶点和潜在机制,选取辣椒活性成分进行细胞实验验证。方法:采用中医系统药理学(TCMSP)来获取辣椒的活性成分和靶点。同时,使用 GeneCards 数据库检索 DCM 的相关靶点。维恩图用于获取交叉点靶标。使用 Cytoscape 软件构建“草本-成分-靶点”网络并确定核心靶点。使用 DAVID 数据库和 metascape 在线网站进行 GO 和 KEGG 通路富集分析,并进一步探讨辣椒改善 DCM 的机制,并选取辣椒活性成分二氢辣椒素(DHC)进行细胞实验验证。H9C2 心肌细胞经 $5.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ D-葡萄糖(D-glu)刺激为正常糖对照组,以 $60 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ D-glu 刺激为高糖组,以 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ DHC 进行干预。采用 mRFP-GFP-LC3 双荧光系统检测自噬流,RT-qPCR 检测 *Beclin1*、*P62*、*AMPK* 和 *LKB1* 的 mRNA 表达水平,Western Blot 检测 *Beclin1*、*P62*、LC3 I 和 LC3 II、p-AMPK、AMPK 和 *LKB1* 的蛋白表达水平。结果:TP53、AKT1、MAPK1 等是关键候选靶点,与多种通路包括雌激素信号通路、LKB1 通路等显著相关。这表明辣椒对抗 DCM 的潜在机制可能主要与细胞凋亡和自噬相关。体外实验结果表明,DHC 处理显著降低了高糖导致的 H9C2 细胞的凋亡率,并且增强了细胞自噬。结论:辣椒活性成分 DHC 通过调节细胞凋亡和自噬途径在改善糖尿病心肌病方面作出了重大贡献,这为未来的研究奠定了基础并提供了创新思路。

关键词 辣椒;二氢辣椒素;糖尿病心肌病;LKB1/AMPK 通路;网络药理学;药理机制

中图分类号 R542.2

文献标志码 A

Bioactive component of *Capsicum annuum* L., dihydrocapsaicin, enhances autophagy through the LKB1/AMPK pathway to improve high-glucose-induced damage to H9C2 cardiomyocytes

WEI Xiaoliang¹, LU Huifang¹, ZHU Ye¹, CHEN Bairong¹, WANG Kemei², KE Xiao²,
LUO Ye³, WENG Jianxin³

¹The Fifth Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Zhuhai 519000, Guangdong, China;

²Fuwai Shenzhen Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Shenzhen 518057, Guangdong, China;

³Peking University Shenzhen Hospital, Shenzhen 518057, Guangdong, China

Abstract

Objective: To investigate the core components, key targets, and potential mechanisms of *Capsicum annuum* L. (Capsicum) in the treatment of diabetic cardiomyopathy (DCM), and to validate the bioactive components through cell experiments. **Methods:** Traditional Chinese Medicine System Phar-

课题来源:珠海市科技计划项目(编号:2220004000275);深圳市科技计划项目(编号:JCYJ20210324105614039)。

作者简介:危小良,1985—,医学硕士生,副主任医师,主要从事心血管病研究,E-mail:weixl3@mail.sysu.edu.cn。

通信作者:翁建新,E-mail:WJX968123@163.com。

macology (TCMSP) was used to obtain the active ingredients and targets of Capsicum. Also, GeneCards database was used to retrieve relevant targets of DCM. Venn diagram was used to obtain intersection targets. Cytoscape software was used to construct “herb-ingredient-target” networks and identify core targets. The DAVID database and Metascape online platform were applied for Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis to further investigate the mechanisms by which Capsicum ameliorates DCM. The active Capsicum component dihydrocapsaicin (DHC) was selected for cellular experimental validation. H9C2 cells were stimulated with 5.5 mmol·L⁻¹ D-glucose as a normal-glucose control group, and 60 mmol·L⁻¹ D-glucose as a high-glucose group, and treated with 10 μmol·L⁻¹ DHC. The mRFP-GFP-LC3 dual fluorescence system was used to detect autophagic flux, RT-qPCR was used to detect the mRNA expression levels of Beclin1, P62, AMPK, and LKB1, and Western blot was used to detect the protein expression levels of Beclin1, P62, LC3 I and LC3 II, p-AMPK, AMPK, and LKB1, respectively. **Results:** The results showed that TP53, AKT1, and MAPK1 were the key candidate targets, which were significantly associated with various pathways including estrogen signaling pathway and LKB1 pathway. This suggests that the potential mechanism of Capsicum against DCM may be mainly related to apoptosis and autophagy. The results of *in vitro* experiments showed that DHC treatment significantly reduced the apoptosis rate of H9C2 cells induced by high glucose and enhanced cellular autophagy. **Conclusion:** The significant contribution of DHC in ameliorating DCM by modulating apoptosis and autophagy pathways lays the foundation and provides innovative ideas for future research.

Key Words *Capsicum annuum* L.; Dihydrocapsaicin; Diabetic Cardiomyopathy; LKB1/AMPK Pathway; Network Pharmacology; Pharmacological Mechanisms

糖尿病患病人数为4.63亿,约占世界人口的9.3%,目前已成为全球性健康问题^[1]。糖尿病心脏病(diabetic cardiomyopathy, DCM)是糖尿病的严重并发症之一,糖尿病患者发生不良心血管事件的风险是非糖尿病患者的3~5倍^[2]。尽管DCM引起了极大的关注,且新的治疗方法不断开发,但仍然缺乏有效的治疗策略。因此,探索和靶向与DCM相关的信号通路成为治疗DCM的热点和难点。

辣椒(*Capsicum annuum* L.),作为一种调味料,近年来在医药领域展现出了巨大的潜力。大量研究^[3-5]显示,相较于饮食清淡的人群,习惯食用辣椒的人群身体更健康,寿命更长。一项对4 387篇共纳入564 748名成人的Meta分析显示,食用辣椒的人群心血管疾病(CVD)死亡率降低了约12%^[6]。《药检》中记载,辣椒能“祛风行血、散寒解郁、导滞、止泻、擦癣”。辣椒素、二氢辣椒素(dihydrocapsaicin, DHC)是辣椒中含量较高且特有的辣椒碱类物质,也是辣椒发挥生物活性的关键物质,具有抗炎、抗菌、改善血液循环等生物活性。例如,辣椒素可能通过激活TRPV1改善内皮依赖性血管舒张并预防高血压^[7],并且可以减少血管脂质积累减轻动脉粥样硬化^[8]。既往研究^[9]已经表明DHC可以通过

PPARγ/LXRα途径显著减少动脉粥样硬化斑块的形成,但针对DHC改善DCM的研究比较缺乏。同时,尽管DHC和辣椒素均是辣椒中的主要活性化合物,但是DHC比辣椒素有更高的生物利用度,更具有临床应用价值。

本研究采用网络药理学方法研究辣椒、靶点和疾病之间的关系。通过参考相关文献^[10-11],采用高葡萄糖诱导H9C2心肌细胞建立糖尿病心肌病体外模型,并通过细胞实验对辣椒活性成分DHC改善糖尿病心肌损伤的机制进行验证,以期对辣椒改善DCM的进一步开发和临床应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 主要药物、试剂与仪器 主要实验材料(厂商)如下:二氢辣椒碱(源叶);D-葡萄糖(Servicebio);甘露醇(阿拉丁);低糖DMEM培养基(Servicebio);CCK-8(Abbkine);cDNA反转录试剂盒和Real-time PCR试剂盒(艾科瑞);PCR引物(捷瑞引物);TRIzol(Ambion);兔抗GAPDH(Proteintech);兔抗Beclin 1、兔抗P62、兔抗LC3、兔抗AMPK、兔抗P-AMPK及兔抗LKB1(Proteintech);CO₂培养箱;荧光定量PCR仪(Thermo Quantstudio 7 Pro);

自动化学发光图像分析系统。

1.2 主要方法

1.2.1 辣椒有效成分、靶点和 DCM 相关基因的获取 利用中医系统药理学(TCMSP)平台(<https://tcmsp-e.com/tcmsp.php>)筛选辣椒有效活性成分及靶基因,在检索框中输入“辣椒”作为关键词,选择 Ingredients,根据药物代谢动力学特征设置筛选条件为:生物利用度(OB)≥30%,类药性(DL)≥0.18。利用 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)获得辣椒活性成分的 Canonical SMILES 号并在 Swiss Target Prediction 输入,限定物种为“Homo sapiens”,进行靶点预测。以 Probability>0.1 为筛选标准,筛选辣椒有效成分的靶点。用关键词“Diabetic Cardiomyopathy”在 Genecards (<https://www.genecards.org/>)数据库中搜索疾病相关靶标,按照相关性分数进行筛选,获取 DCM 相关基因。将辣椒活性化合物的作用靶点与 DCM 相关作用靶点导入在线网站 Venny 2.1.0,绘制 Venn 图,筛选出辣椒-糖尿病心肌病共同靶点。

1.2.2 关键靶点蛋白-蛋白相互作用网络(PPI)构建 将辣椒与糖尿病心肌病共同靶基因导入 STRING 数据库(<https://cn.string-db.org/>),选择物种“Homo sapiens-SEARCH”,得到辣椒与糖尿病心肌病核心靶点 tsv 文件。将核心靶点 tsv 文件导入到 Cytoscape 3.6.0 软件中,利用 GentiScaPe 2.2 插件计算 Degree, Closeness 和 Betweenness 值,根据 Degree, Closeness 和 Betweenness 值排序将 PPI 网络图进行可视化处理。

1.2.3 基因本体论(GO)和通路富集分析 使用 DAVID 数据库对与辣椒和糖尿病心肌病相关的靶标进行 GO 功能富集分析,利用 Metascape 在线网站进行通路富集分析。选取 GO 分析结果中富集程度最高的前 10 条绘制富集气泡图。选取通路分析结果中富集程度最高的前 20 条通路进行可视化。

1.2.4 高糖诱导 H9C2 细胞自噬模型的构建 长势良好的 H9C2 心肌细胞用胰酶消化后,按每孔约 10 000 个细胞密度接种于 96 孔板中,细胞贴壁后分别给予 5.5、10、20、30、40、50、60、80 mmol·L⁻¹的 D-葡萄糖(D-glu),培养 48 h 后进行 CCK-8 检测细胞活力。*n*=5,重复 3 次实验。

1.2.5 辣椒主要有效活性成分 DHC 对 H9C2 细胞活性的影响 H9C2 心肌细胞以含 10% 胎牛血清(FBS)、5.5 mmol·L⁻¹ D-glu 的 DMEM 培养基培养,取对数生长期细胞接种于 96 孔板中,每孔 10 000 个,

培养过夜后分别加入含不同浓度(10、15、20、25 μmol·L⁻¹)的 DHC 和 60 mmol·L⁻¹ D-glu 及等渗甘露(Man)溶液 100 μL,于培养箱中孵育细胞 48 h 后使用 CCK-8 检测细胞活力。*n*=3,重复 3 次实验。

1.2.6 DHC 对高糖环境下 H9C2 活性的影响 H9C2 心肌细胞以含 10% FBS、5.5 mmol·L⁻¹ D-glu 的 DMEM 培养基培养,取对数生长期的 H9C2 细胞接种于 96 孔板中,每孔 10 000 个,培养过夜后分别加入 5.5 mmol·L⁻¹ D-葡萄糖(正常糖对照组,CN 组)、等渗甘露溶液(Man 组)、60 mmol·L⁻¹ D-葡萄糖液(高糖组,HG 组)、10 μmol·L⁻¹ 二氢辣椒素溶液(DHC 组)及 60 mmol·L⁻¹ D-葡萄糖液+10 μmol·L⁻¹ 二氢辣椒素溶液(HG+DHC 组)100 μL,于培养箱中孵育细胞 48 h 后使用 CCK-8 检测细胞活力。每组设 6 个复孔,重复 3 次实验。

1.2.7 稳定表达自噬双标慢病毒(mRFP-eGFP-LC3)的 H9C2 细胞的构建及自噬情况观察 mRFP-eGFP-LC3 双荧光自噬指示剂系统是自噬评估中使用的常用工具。H9C2 心肌细胞以每皿 1×10⁵ 个细胞接种于共聚焦小皿,在相关条件下培养 48 h,然后根据制造商的说明用 mRFP-eGFP-LC3 慢病毒(海星生物)处理 H9C2 细胞后,于激光共聚焦荧光显微镜下观察红色和绿色 LC3 的荧光点变化,随机选取一个视野下所有细胞进行拍照,分析自噬变化。

1.2.8 定量实时聚合酶链反应 使用 RNA 提取试剂盒提取总 RNA。使用试剂盒进行 cDNA 制备,最后采用实时荧光定量 PCR 检测自噬相关 mRNA *P62* 和 *Beclin 1* 的表达水平,以及通路相关 mRNA *AMPK* 和 *LKB1* 的 mRNA 相对表达量,引物序列如表 1 所示。作为内部对照同时测定 GAPDH 基因表达。使用 2^{-ΔΔC_t} 方法测定基因相对表达。所有样品一式三份运行。

1.2.9 Western Blot 法检测 Beclin1、P62 和 LC3

表 1 引物序列

基因名称		序列(5'—3')
Beclin1	正向	CCATTACTTACCACAGCCCA
	反向	GATGAATCTTCGAGAGACACCA
P62	正向	ACCCATCCACAGGTGAAGTC
	反向	GTGGGAGATGTGGGTACAGG
LKB1	正向	GCCTTGACCCCTTTTCGCT
	反向	AGTGGTGGAGCGCAGTCA
AMPK	正向	CACTGGATGCACTCAACACAAC
	反向	TCACTACCTTCCATTCAAAGTCC
GAPDH	正向	AACTCCCATTCTTCCACCTTTG
	反向	CCCTGTTGCTGTAGCCATATT

I/II 自噬相关蛋白及 LKB1、AMPK 和 p-AMPK 通路相关蛋白表达 收集细胞后用强裂解液在冰上裂解细胞,之后在冰浴条件下用超声破碎仪破碎用以提取各组细胞蛋白。将样品与 5×SDS 样品缓冲液混合,并在 95 ℃下孵育 10 min。定量后取 10 μg 总蛋白上样、10% Tris-甘氨酸凝胶电泳,之后将蛋白转到 0.45 μm PVDF 膜上,5% 脱脂奶粉封闭 1 h 后一抗 4 ℃孵育过夜。第 2 天加入二抗孵育 1 h,最后进行 ECL 显影。采用 Image J 软件对蛋白条带进行灰度值分析,所有样品一式三份。

1.3 统计学分析 使用 GraphPad Prism 9.5 软件对数据进行统计分析。采用 *t* 检验测量两组之间的差异,同时采用单因素方差分析(ANOVA)评估组

间差异。实验数据以均数±标准差表示,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 辣椒活性化合物及靶点的获取 在 TCMSP 数据库中获得辣椒化学成分 222 个,按照 $OB\geq 30\%$ 、 $DL\geq 0.18$ 的条件进行筛选,获取辣椒的活性化合物为 14 个(见表 2)。以 $Probability>0.1$ 为筛选标准,获得各活性化合物的靶点基因共有 220 个。DHC 作为辣椒中的重要活性成分之一,在众多已发表的文献^[12-14]中,均被报道在改善心血管疾病方面展现出显著疗效。鉴于此,本研究特选取 DHC 作为深入探究的目标对象。

表 2 辣椒活性化合物

Mol ID	化合物英文名称	OB/%	DL
MOL002773	beta-carotene	37.18	0.58
MOL002879	Diop	43.59	0.39
MOL000359	sitosterol	36.91	0.75
MOL000433	FA	68.96	0.71
MOL012362	Capsanthin	47.52	0.51
MOL008688	capsicastrine_qt	31.22	0.83
MOL008690	(2E,4Z,6Z,8E,10E,12E,14Z,16Z,18E)-1,20-bis[(1R,4S)-4-hydroxy-1,2,2-trimethylcyclopentyl]-4,8,13,17-tetramethylicos-2,4,6,8,10,12,14,16,18-nonaene-1,20-dione	33.00	0.49
MOL008691	alpha-Carotene/beta, epsilon-Carotene	34.51	0.58
MOL008693	cryptocapsin	42.47	0.54
MOL010234	delta-Carotene	31.80	0.55
MOL008698	Dihydrocapsaicin(DHC)	47.07	0.19
MOL008723	mutatoxanthin	60.65	0.56
MOL008745	3-methoxy-4-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxybenzoic acid	33.20	0.25
MOL000953	CLR	37.87	0.68

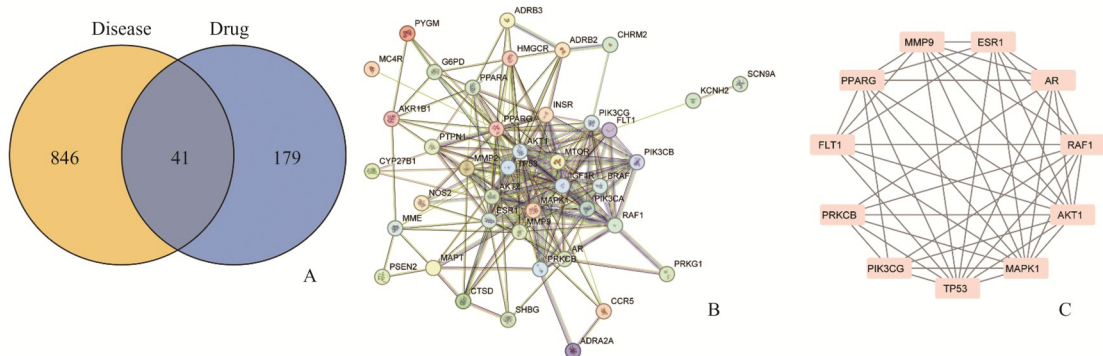
2.2 糖尿病心肌病靶点及辣椒-糖尿病心肌病共同靶点的获取 共获得糖尿病心肌病相关靶点基因 7 086 个,将上述数据库的靶点按照相关性分数进行筛选,获得糖尿病心肌病相关靶点基因共有 887 个。将辣椒活性化合物的作用靶点与糖尿病心肌病相关作用靶点导入在线网站 Venny 2.1,筛选出辣椒-糖尿病心肌病共同靶点共 41 个,并绘制 Venn 图(见图 1A)。

2.3 PPI 网络的构建以及筛选核心靶点 将辣椒-糖尿病心肌病的 41 个交集基因导入 STRING 数据库,构建 PPI 网络图,并导出 tsv 文件。使用 Cytoscape 3.9.1 软件分析 PPI 结果,依据 Degree、Closeness 和 Betweenness 值筛选出 11 位核心靶点(见图 1B、1C)。

2.4 GO 功能富集分析和通路富集分析 将 41 个

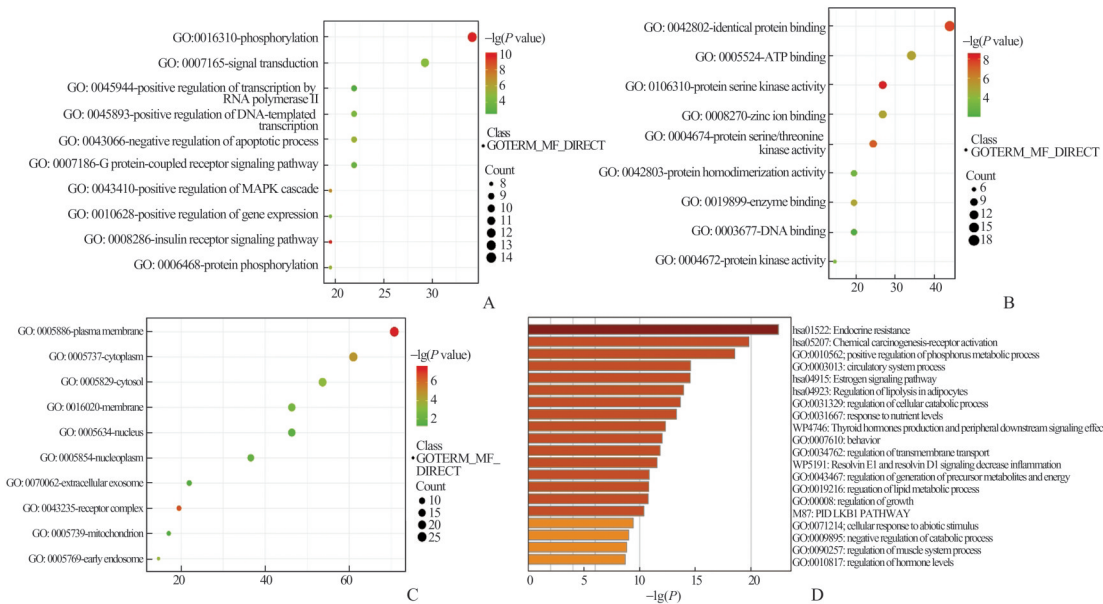
辣椒-糖尿病心肌病交集靶点基因进行 GO 功能富集分析和通路富集分析。共富集到 236 个条目,其中生物学过程 167 条,分子功能 46 条,细胞组成 23 条,按照 *P* 值大小排序取前 10 位进行富集分析,绘制富集气泡图(见图 2A~2C)。同时进行通路富集分析,富集的前 20 条相关通路如图 2D,其中, LKB1 通路被富集。过往研究显示,该通路具有改善 DCM 的潜力,且这一过程与自噬机制密切相关^[15]。因此,我们进一步探究了辣椒活性成分是否能够通过 LKB1/AMPK 通路调节自噬过程,进而改善 DCM。

2.5 高糖和 DHC 对心肌细胞活力的影响 给予不同浓度的 *D*-glu 作用于 H9C2 细胞 48 h,结果显示当 *D*-glu 浓度为 60 mmol·L⁻¹ 时细胞活性率下降至约 67%,此时高糖环境对心肌细胞活力有显著影响,因此选取 60 mmol·L⁻¹ *D*-glu 作为后续造模浓度



A. 辣椒-糖尿病心脏病共同靶点 (Venn); B、C. 辣椒治疗糖尿病心脏病的 PPI 网络、核心靶点。

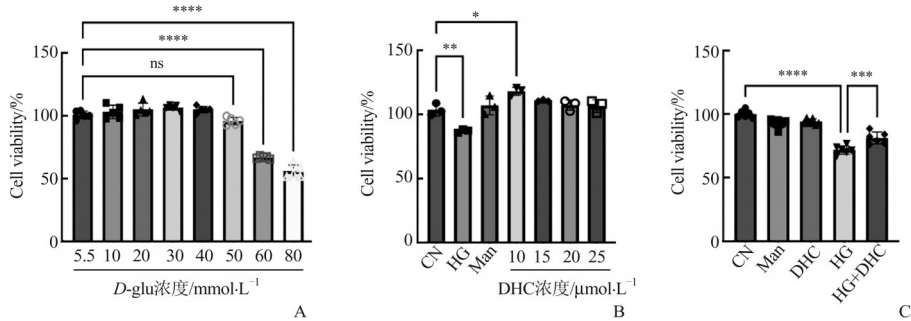
图 1 辣椒-糖尿病心脏病共同靶点及核心靶点的筛选过程



A~C. 分别表示 GO 功能富集分析的生物过程 (BP) (A)、分子功能 (MF) (B) 和细胞组分 (CC) (C)。根据富集分析的 P 值对前 10 个进行排序,并绘制富集气泡图。D. 通路富集分析,富集了前 20 条相关通路。

图 2 辣椒治疗糖尿病心脏病的 GO 功能分析和通路富集分析

(见图 3A)。根据网络药理学分析辣椒的有效化学成分,选取 DHC 进行进一步验证。结果发现,与 CN 组 ($5.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ D-glu}$) 相比, $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 DHC 对细胞增殖有促进作用,因此选取 $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 DHC 进行后续实验 (见图 3B)。同时,实验结果提示,给予 DHC 能够显著提高高糖环境下 H9C2 细胞活性 (见图 3C)。



A~C. 分别表示高糖 (A)、二氢辣椒素 (DHC) (B) 和高糖 + DHC (C) 对 H9C2 细胞活力的影响。ns. $P>0.05$, $^*P<0.05$, $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$, $^{****}P<0.0001$ 。

图 3 高糖及 DHC 对心肌细胞活力的影响

2.6 高糖处理 H9C2 细胞自噬情况影响 激光共聚焦结果显示,高糖(HG)处理 H9C2 细胞后,同 CN 组比较,HG 组自噬流(黄色荧光点)明显降低,高糖

环境下给予 DHC 后,与 HG 对比,自噬流呈现升高的趋势(见图 4)。

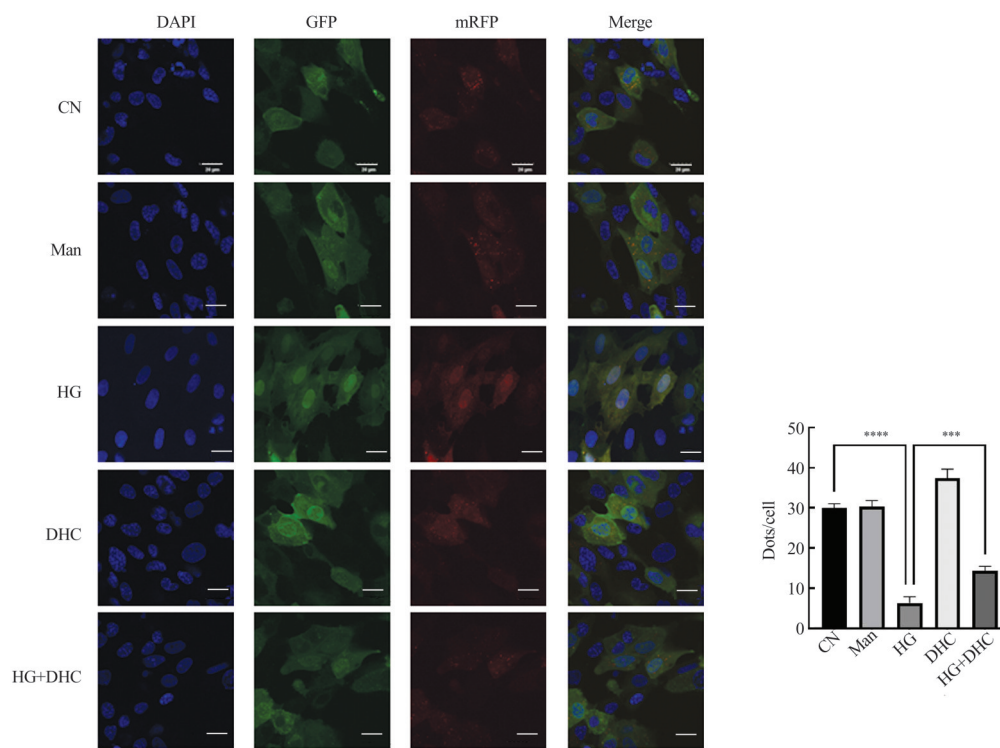


图4 瞬时转染 mRFP-eGFP-LC3 后不同处理组 H9C2 细胞的代表性荧光照片和统计结果

注:处理因素分别为 $5.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ D-葡萄糖(CN 组)、等渗甘露溶液(Man 组)、 $60 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ D-葡萄糖液(HG 组)、 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 二氢辣椒素溶液(DHC 组)及 $60 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ D-葡萄糖液 + $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 二氢辣椒素溶液(HG+DHC 组);图中比例尺 = $20 \mu\text{m}$ 。*** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ 。

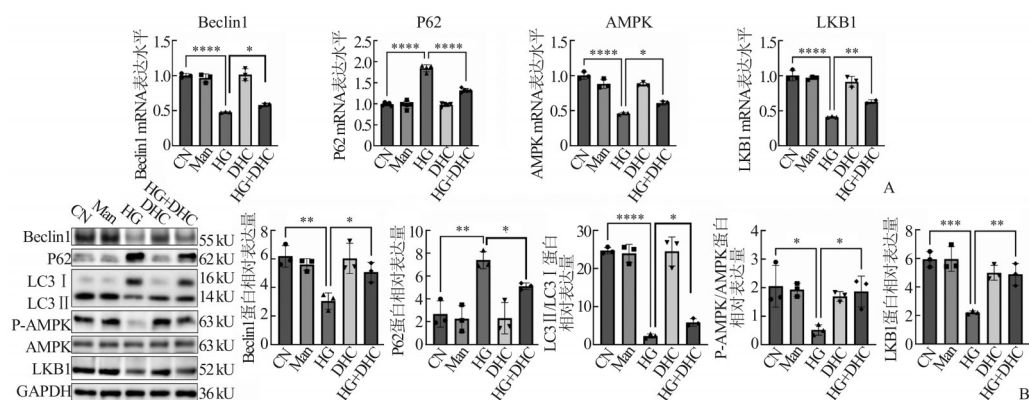
2.7 DHC 对高糖环境下 H9C2 细胞自噬相关基因及 LKB1/AMPK 通路基因的影响 根据网络药理学研究结果筛选出 LKB1 关键通路并予以实验验证。结果发现,相比于 CN 组, HG 组 *Beclin1*、*AMPK* 和 *LKB1* mRNA 表达下调,而 *P62* mRNA 表达升高;相比于 HG 组, HG+DHC 组 *Beclin1*、*AMPK* 和 *LKB1* mRNA 表达上调,而 *P62* mRNA 表达下调(见图 5A)。结果表明,高糖抑制自噬, DHC 可增强自噬, LKB1/AMPK 信号通路被激活。

2.8 DHC 对高糖环境下 H9C2 细胞自噬蛋白及 LKB1/AMPK 通路蛋白的影响 如图 5B 所示,相比于 CN 组, HG 组 LC3-II/LC3-I 比值下降, *Beclin1* 表达下调,而 *P62* 表达升高;相比于 HG 组, HG+DHC 组 LC3-II/LC3-I 比值升高, *Beclin1* 表达上调,而 *P62* 表达下降。结果提示,高糖可抑制自噬水平,给予 DHC 可增强自噬,改善心肌细胞凋亡。相比于 CN 组, HG 组 P-AMPK/AMPK 比值下降, LKB1 表达下调;相比于 HG 组, HG+DHC 组 P-AMPK/AMPK 比值升高, LKB1 表达上调。结果

提示 LKB1/AMPK 信号通路被激活。

3 讨论

糖尿病心肌病(DCM)作为一种与糖尿病密切相关的心肌功能障碍疾病,自 1954 年被提出后,其复杂的病理生理机制逐渐被揭示^[16]。在这一系列的研究进展中, LKB1/AMPK/ULK1、AMPK/SIRT1 介导的 IRE1 α /PINK 等自噬相关信号通路在 DCM 的发生与发展过程中表现出重要的调节功能。自噬作为细胞内的分解代谢机制,通过选择性降解受损细胞器及冗余生物大分子,在维持细胞功能稳态中发挥核心调控作用。在 DCM 的环境下,自噬功能的异常可能涉及心肌细胞对持续高糖环境的适应性不足,进而触发一系列有害的病理生理过程,如心肌细胞死亡、纤维化及心功能下降等^[17-18]。值得注意的是,尽管持续高糖状态诱发的细胞应激反应是导致 DCM 进展的关键因素之一,但目前针对 DCM 的有效治疗手段仍然有限。此



A. 自噬和LKB1通路相关基因在H9C2细胞中的表达水平;B. 自噬和LKB1通路相关蛋白在H9C2细胞中的表达水平。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ 。

图5 DHC对高糖环境下H9C2细胞自噬及LKB1通路相关基因和蛋白表达水平的影响

外,近年来有研究^[19-20]表明,辣椒中辣椒素、二氢辣椒素(DHC)和一些类胡萝卜素是具有抗癌和心脏保护的主要活性化合物。然而,关于辣椒是否含有针对DCM的特定有效成分、这些成分作用于哪些靶基因以及通过何种信号调节通路发挥保护作用,目前科学界尚缺乏明确的认识。

本研究首先基于中药网络药理学数据库,筛选出辣椒中14种具有显著生物活性的核心化学成分,包括DHC、辣椒素、类胡萝卜素等。研究^[21]报道,辣椒素通过激活TRPV1和Nrf2/HMOX1通路抑制心肌细胞铁死亡,进而减轻2型糖尿病小鼠心肌梗死后的的心脏损伤。DHC可以通过PPAR γ /LXR α DHC通路显著减少高脂肪/高胆固醇饮食的apoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化斑块的形成^[13]。这些丰富的有效成分成为辣椒改善DCM奠定了基础,具有较高的临床应用价值。针对辣椒的有效成分初步筛选出220个靶基因,通过运用STRING数据库对交集基因进行PPI网络分析,筛选到PPAR α 、PPAR γ 、ESR1、TP53和AKT1等41个互作基因。其中PPAR α 被认为是DCM发展的重要参与者,如PPAR α 的过表达导致小鼠发生严重的心肌病^[22],而抑制PPAR α 会阻止DCM的发展^[23]。另外,进一步对41个互作基因进行KEGG富集,其中LKB1通路、甲状腺激素的产生和外周下游信号效应等通路与DCM密切相关^[15, 24],具备进一步深入探究的价值。

既往研究^[15]已经证实LKB1/AMPK/ULK1通路介导的自噬能够改善DCM。本研究用高糖刺激H9C2细胞,发现LC3 II/I、Beclin1等自噬相关基因和蛋白表达降低,P62基因和蛋白表达升高;同时LKB1、p-AMPK/AMPK的基因和蛋白表达均降低,提示高糖刺激诱导自噬通过LKB1/AMPK信号

通路来影响心肌细胞。后续研究中,在高糖培养的心肌细胞培养皿内加入不同浓度的DHC,发现10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ DHC组的细胞活性最适宜,因此选择10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ DHC为后续实验组。实验结果表明,DHC组LC3 II/I、Beclin1、LKB1、p-AMPK/AMPK的表达水平均较HG组升高,而P62基因和蛋白表达降低,说明DHC可以通过LKB1/AMPK通路促进心肌细胞自噬过程。有研究^[25]证实,DHC通过诱导内质网应激介导的自噬从而保护WI38肺上皮成纤维细胞,这与本研究中DHC增强心肌细胞自噬进而改善DCM的结果相似。本研究结果提示DHC可通过促进自噬相关LKB1/AMPK信号通路减轻高糖诱导的心肌细胞损伤,但是尚未进一步对DHC改善DCM进行深入的体内研究。同时,未对辣椒中其他活性成分发挥的药理作用和机制进行深入探讨。

综上,本研究网络药理学结果表明辣椒通过多靶点、多信号的机制在改善DCM中发挥作用。细胞学实验揭示了辣椒关键成分DHC可通过促进自噬相关LKB1/AMPK信号通路减轻高糖诱导的心肌细胞损伤,从而改善DCM的作用机制。本研究为辣椒的活性成分改善DCM的进一步研究开发和临床应用提供了实验依据。



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

参考文献

- [1] ZHAO X D, LIU S W, WANG X, et al. Diabetic cardiomyopathy: Clinical phenotype and practice[J]. Front Endocrinol, 2022, 13: 1032268.
- [2] KANNEL W B. Diabetes and cardiovascular disease

- [J]. JAMA, 1979, 241(19): 2035.
- [3] LV J, QI L, YU C Q, et al. Consumption of spicy foods and total and cause specific mortality: Population based cohort study[J]. BMJ, 2015, 351: h3942.
- [4] BONACCIO M, DI CASTELNUOVO A, COSTANZO S, et al. Chili pepper consumption and mortality in Italian adults[J]. J Am Coll Cardiol, 2019, 74(25): 3139-3149.
- [5] CHOPAN M, LITTENBERG B. The association of hot red chili pepper consumption and mortality: A large population-based cohort study[J]. PLoS One, 2017, 12(1): e0169876.
- [6] OFORI-ASENSO R, MOHSENPOUR M A, NOURI M, et al. Association of spicy chilli food consumption with cardiovascular and all-cause mortality: A meta-analysis of prospective cohort studies[J]. Angiology, 2021, 72(7): 625-632.
- [7] YANG D C, LUO Z D, MA S T, et al. Activation of TRPV1 by dietary capsaicin improves endothelium-dependent vasorelaxation and prevents hypertension[J]. Cell Metab, 2010, 12(2): 130-141.
- [8] MA L Q, ZHONG J, ZHAO Z G, et al. Activation of TRPV1 reduces vascular lipid accumulation and attenuates atherosclerosis[J]. Cardiovasc Res, 2011, 92(3): 504-513.
- [9] YASIN M, LI L, DONOVAN-MAK M, et al. Capsicum waste as a sustainable source of capsaicinoids for metabolic diseases[J]. Foods, 2023, 12(4): 907.
- [10] ZHU H Z, ZHANG L Y, ZHAI M G, et al. GDF11 alleviates pathological myocardial remodeling in diabetic cardiomyopathy through SIRT1-dependent regulation of oxidative stress and apoptosis[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 686848.
- [11] ZHANG J, WANG G L, SHI Y X, et al. Growth differentiation factor 11 regulates high glucose-induced cardiomyocyte pyroptosis and diabetic cardiomyopathy by inhibiting inflammasome activation[J]. Cardiovasc Diabetol, 2024, 23(1): 160.
- [12] THONGIN S, DEN-UDOM T, UPPAKARA K, et al. Beneficial effects of capsaicin and dihydrocapsaicin on endothelial inflammation, nitric oxide production and antioxidant activity[J]. Biomed Pharmacother, 2022, 154: 113521.
- [13] HU Y W, MA X, HUANG J L, et al. Dihydrocapsaicin attenuates plaque formation through a PPAR γ /LXR α pathway in apoE $^{-/-}$ mice fed a high-fat/high-cholesterol diet[J]. PLoS One, 2013, 8(6): e66876.
- [14] FOSGERAU K, RISTAGNO G, JAYATISSA M, et al. Increased susceptibility to cardiovascular effects of dihydrocapsaicin in resuscitated rats. Cardiovascular effects of dihydrocapsaicin[J]. BMC Cardiovasc Disord, 2010, 10: 39.
- [15] LU Q B, DING Y, LIU Y, et al. Metrnl ameliorates diabetic cardiomyopathy *via* inactivation of cGAS/STING signaling dependent on LKB1/AMPK/ULK1-mediated autophagy[J]. J Adv Res, 2023, 51: 161-179.
- [16] FELÍCIO J S, KOURY C C, CARVALHO C T, et al. Present insights on cardiomyopathy in diabetic patients[J]. Curr Diabetes Rev, 2016, 12(4): 384-395.
- [17] YANG L Q, GAO Z, ZHAO H, et al. Resveratrol delays diabetic cardiomyopathy fibrosis by regulating mitochondrial autophagy[J]. Altern Ther Health Med, 2025, 31(1): 143-149.
- [18] ZHANG S Z, TIAN W C, DUAN X X, et al. Melatonin attenuates diabetic cardiomyopathy by increasing autophagy of cardiomyocytes *via* regulation of VEGF-B/GRP78/PERK signaling pathway[J]. Cardiovasc Diabetol, 2024, 23(1): 19.
- [19] MANDAL S K, RATH S K, LOGESH R, et al. *Capsicum annuum* L. and its bioactive constituents: A critical review of a traditional culinary spice in terms of its modern pharmacological potentials with toxicological issues[J]. Phytother Res, 2023, 37(3): 965-1002.
- [20] MOSELEY A, LAIPPLY K, RUBINSTEIN J. Capsaicin mediates remote ischemic pre-conditioning to explain improved cardiovascular mortality with chili pepper intake[J]. J Am Coll Cardiol, 2020, 75(15): 1865.
- [21] YANG C, GUO W L, HE R L, et al. Dietary capsaicin attenuates cardiac injury after myocardial infarction in type 2 diabetic mice by inhibiting ferroptosis through activation of TRPV1 and Nrf2/HMOX1 pathway[J]. Int Immunopharmacol, 2024, 140: 112852.
- [22] FINCK B N, LEHMAN J J, LEONE T C, et al. The cardiac phenotype induced by PPAR α overexpression mimics that caused by diabetes mellitus[J]. J Clin Invest, 2002, 109(1): 121-130.
- [23] WU L J, WANG K, WANG W, et al. Glucagon-like peptide-1 ameliorates cardiac lipotoxicity in diabetic cardiomyopathy *via* the PPAR α pathway[J]. Aging Cell, 2018, 17(4): e12763.
- [24] MANTZOURATOU P, LAVECCHIA A M, NOVELLI R, et al. Thyroid hormone signalling alteration in diabetic nephropathy and cardiomyopathy: A "switch" to the foetal gene programme[J]. Curr Diabetes Rep, 2020, 20(11): 58.
- [25] OH S H, LIM S C. Endoplasmic reticulum stress-mediated autophagy/apoptosis induced by capsaicin (8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamide) and dihydrocapsaicin is regulated by the extent of c-Jun NH $_2$ -terminal kinase/extracellular signal-regulated kinase activation in WI38 lung epithelial fibroblast cells[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2009, 329(1): 112-122.

(2025-03-25 收稿)

编辑 张峻