[文章编号] 1671-587X(2026)04-0942-11 DOI:10.13481/j.1671-587X.20260407

鹿茸多肽通过调控Keap1/Nrf2/HO-1信号通路对糖尿病心肌病小鼠心肌损伤的改善作用

黄晓巍[1]，郑彭予[2]，李 馨[3]，洪传彬[3]，李萌萌[4]，律广富[5]，徐 岩[3]，林 喆[3]，许佳明[3]
（1. 长春中医药大学东北亚中医药研究院基础研究所，吉林 长春 130117；2. 江苏康缘药业股份有限公司，江苏 连云港 222047；3. 长春中医药大学药学院临床药学与中药药理教研室，吉林 长春 130117；4. 长春中医药大学东北亚中医药研究院中药研究所，吉林 长春 130117；5. 长春中医药大学吉林省人参科学研究院中药药理组，吉林 长春 130117）

[摘 要] **目的：**探讨鹿茸多肽（VAP）对糖尿病心肌病（DCM）小鼠心肌损伤的改善作用，并阐明其作用机制。**方法：**高糖高脂饲料饲养联合腹腔注射链脲佐菌素（STZ）法建立DCM模型。将50只成功造模C57BL/6J小鼠随机均分为模型组、二甲双胍（Met）组（给予250 mg·kg^{-1} Met）、低剂量组VAP（给予100 mg·kg^{-1} VAP）、中剂量组VAP（给予200 mg·kg^{-1} VAP）和高剂量组VAP（给予300 mg·kg^{-1} VAP），每天给药1次，连续给药4周；另取10只C57BL/6J小鼠作为对照组（给予标准饲料饲养）。监测各组小鼠体质量和空腹血糖（FBG）水平，心脏超声检测小鼠心功能，HE染色观察小鼠心肌组织病理形态表现，Masson染色观察小鼠心肌组织纤维化程度，油红O染色观察小鼠心肌组织脂质分布，试剂盒检测小鼠心肌组织中超氧化物歧化酶（SOD）、过氧化氢酶（CAT）和谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）活性及丙二醛（MDA）水平，免疫组织化学染色观察小鼠心肌组织中Kelch样ECH关联蛋白1（Keap1）表达情况，免疫荧光染色观察小鼠心肌组织中核因子红细胞2相关因子2（Nrf2）和血红素加氧酶1（HO-1）表达情况，Western blotting法检测小鼠心肌组织中Keap1、Nrf2、HO-1和含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白酶3（Caspase-3）蛋白表达水平。**结果：**与对照组比较，模型组小鼠心肌损伤严重，心肌细胞间隙增大、胶原纤维增多及脂质分布增加，体质量、收缩末期左心室后壁厚度（LVPWs）和射血分数（EF）明显降低（$P<0.05$或$P<0.01$），FBG、左心室舒张末期内径（LVIDd）与收缩末期内径（LVIDs）均明显升高（$P<0.05$或$P<0.01$），心肌组织中SOD、CAT和GSH-Px活性明显降低（$P<0.01$），MDA水平明显升高（$P<0.01$），心肌组织中Nrf2和HO-1蛋白表达水平明显降低（$P<0.01$），Keap1和Caspase-3蛋白表达水平明显升高（$P<0.01$）。与模型组比较，Met组、中剂量VAP组和高剂量VAP组小鼠心肌组织病理形态表现、心肌纤维化及脂质分布均得到不同程度改善，体质量、LVPWs和EF明显升高（$P<0.05$或$P<0.01$），FBG、LVIDd和LVIDs明显降低（$P<0.05$或$P<0.01$），心肌组织中SOD、CAT和GSH-Px活性明显升高（$P<0.05$或$P<0.01$），MDA水平明显降低（$P<0.05$或$P<0.01$），心肌组织中Nrf2和HO-1蛋白表达水平明显升高（$P<0.01$），Keap1和Caspase-3蛋白表达水平明显降低（$P<0.01$）；低剂量VAP组小鼠体质量明显增加（$P<0.05$）、FBG明显降低（$P<0.05$），但LVPWs、EF、LVIDd和LVIDs，SOD、CAT和GSH-Px活性，MDA水平，Keap1、Nrf2、HO-1和Caspase-3蛋白表达水平差异均无统计学意义（$P>$

[收稿日期] 2025-09-28 [录用日期] 2025-12-02
[基金项目] 吉林省科技厅科技发展计划项目（YDZJ202501ZYTS711）；吉林省教育厅大学生创新创业训练计划项目（S202410199038）
[作者简介] 黄晓巍（1972－），女，吉林省长春市人，主任药师，医学博士，主要从事中药学基础和临床方面的研究。
[通信作者] 许佳明，副教授（E-mail：5717619@qq.com）；
林 喆，教授，博士研究生导师（E-mail：linzhe1228@163.com）

©《吉林大学学报（医学版）》编辑部，开放获取遵循CC BY-NC-ND协议。
© Editorial Board of Journal of Jilin University（Medicine Edition）. Open access under CC BY-NC-ND license.

0.05)。**结论：**VAP可改善DCM小鼠心肌损伤和心功能，其作用具有剂量依赖性，其机制可能与调控Keap1/Nrf2/HO-1信号通路、降低氧化应激与细胞凋亡有关。

[关键词] 鹿茸多肽；糖尿病心肌病；心肌损伤；氧化应激；细胞凋亡

[中图分类号] R587.2 **[文献标志码]** A

Promotion effect of velvet antler polypeptide on myocardial injury in diabetic cardiomyopathy mice by regulating Keap1/Nrf2/HO-1 signaling pathway

HUANG Xiaowei[1], ZHENG Pengyu[2], LI Xin[3], HONG Chuanbin[3], LI Mengmeng[4], LYU Guangfu[5], XU Yan[3], LIN Zhe[3], XU Jiaming[3]

(1. Basic Research Institute of Northeast Asia Institute of Traditional Chinese Medicine, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China; 2. Jiangsu Kangyuan Pharmaceutical Co., Ltd, Lianyungang 222047, China; 3. Clinical Pharmacy and Chinese Medicine Pharmacology Teaching and Research Office, School of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China; 4. Institute of Chinese Materia Medica, Northeast Asia Institute of Traditional Chinese Medicine, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China; 5. Chinese Medicine Pharmacology Group, Jilin Ginseng Academy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

ABSTRACT **Objective:** To investigate the promotion effect of velvet antler polypeptide (VAP) on myocardial injury in the diabetic cardiomyopathy (DCM) mice, and to clarify its mechanism. **Methods:** The DCM model was established by feeding a high-sugar and high-fat diet combined with intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ). Fifty successfully modeled C57BL/6J mice were randomly divided into model group, metformin (Met) group (administered 250 mg·kg^{-1} Met), low dose of VAP group (administered 100 mg·kg^{-1} VAP), medium dose of VAP group (administered 200 mg·kg^{-1} VAP), and high dose of VAP group (administered 300 mg·kg^{-1} VAP), with once daily administration for 4 weeks; another 10 C57BL/6J mice were used as control group (fed a standard diet). The body weights and fasting blood glucose (FBG) levels of the mice in various groups were monitored; cardiac ultrasound was used to detect the cardiac function of the mice; HE staining was used to observe the pathomorphology of myocardium tissue of the mice; Masson staining was used to observe the degree of myocardial fibrosis of the mice; Oil Red O staining was used to observe the lipid distribution in myocardium tissue of the mice; kits were used to detect the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and glutathione peroxidase (GSH-Px) and the level of malondialdehyde (MDA) in myocardium tissue of the mice; immunohistochemistry staining was used to observe the expression of Kelch-like ECH-associated protein 1 (Keap1) in myocardium tissue of the mice; immunofluorescence staining was used to observe the expression of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) and heme oxygenase 1 (HO-1) in myocardium tissue of the mice; Western blotting method was used to detect the expression levels of Keap1, Nrf2, HO-1, and cysteinyl aspartate-specific proteinase 3 (Caspase-3) proteins in myocardium tissue of the mice. **Results:** Compared with control group, the myocardial injury of the mice in model group was severe, with enlarged myocardial cell gaps, increased collagen fibers, and increased lipid distribution; the body weight, left ventricular posterior wall thickness at end-systole (LVPWs), and ejection fraction (EF) of the mice were significantly decreased ($P<0.05$ or $P<0.01$); FBG, left ventricular end-diastolic diameter (LVIDd), and end-systolic diameter (LVIDs) were significantly increased ($P<0.05$ or $P<0.01$); the activities of SOD, CAT, and GSH-Px

in myocardium tissue were significantly decreased ($P<0.01$), and the MDA level was significantly increased ($P<0.01$); the expression levels of Nrf2 and HO-1 proteins in myocardium tissue were significantly decreased ($P<0.01$), while the expression levels of Keap1 and Caspase-3 proteins were significantly increased ($P<0.01$). Compared with model group, the pathomorphology, myocardial fibrosis, and lipid distribution of myocardium tissue of the mice in Met group, medium dose of VAP group, and high dose of VAP group were improved to varying degrees; the body weight, LVPWs, and EF were significantly increased ($P<0.05$ or $P<0.01$); FBG, LVIDd, and LVIDs were significantly decreased ($P<0.05$ or $P<0.01$); the activities of SOD, CAT, and GSH-Px in myocardium tissue were significantly increased ($P<0.05$ or $P<0.01$), and the MDA level was significantly decreased ($P<0.05$ or $P<0.01$); the expression levels of Nrf2 and HO-1 proteins in myocardium tissue were significantly increased ($P<0.01$), and the expression levels of Keap1 and caspase-3 proteins were significantly decreased ($P<0.01$). Compared with model group, the body weight of the mice in low dose of VAP group was significantly increased ($P<0.05$) and FBG was significantly decreased ($P<0.05$), but there were no significant differences in LVPWs, EF, LVIDd, LVIDs, activities of SOD, CAT, and GSH-Px, level of MDA, expression level of Keap1, Nrf2, HO-1, and Caspase-3 proteins ($P>0.05$). **Conclusion**: VAP can improve myocardial injury and cardiac function in the DCM mice in a dose-dependent manner, and its mechanism may be related to regulating the Keap1/Nrf2/HO-1 signaling pathway and reducing oxidative stress and apoptosis.

KEYWORDS Velvet antler polypeptide; Diabetic cardiomyopathy; Myocardial injury; Oxidative stress; Apoptosis

糖尿病心肌病（diabetic cardiomyopathy，DCM）指高血糖引起的心肌代谢功能障碍，作为糖尿病（diabetes mellitus，DM）严重且常见的并发症，DCM已成为DM患者心力衰竭的主要原因[1]。DCM疾病发展进程复杂，持续性高血糖诱发高胰岛素血症和胰岛素抵抗，导致葡萄糖代谢异常、心肌细胞凋亡和心肌纤维化。多项病理机制，包括氧化应激反应、炎症进程、自噬调节异常以及线粒体功能紊乱等，均被证实与DCM的病情发展存在显著关联[2-3]。作为关键的氧化还原调控因子，核因子红细胞2相关因子2（nuclear factor erythroid 2-related factor 2，Nrf2）能够灵敏地识别细胞内氧化应激水平，进而维持氧化还原稳态[4]。该转录因子对多种抗氧化蛋白的表达具有核心调控作用，例如超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）、谷胱甘肽过氧化物酶（glutathione peroxidase，GSH-Px）和血红素加氧酶1（heme oxygenase-1，HO-1）等[5-6]。Kelch样ECH关联蛋白1（Kelch-like ECH-associated protein 1，Keap1）是Nrf2的主要负调节剂，氧化应激条件下，Keap1促使Nrf2向细胞核内转移，启动多种抗氧化酶的转录[7]。作为经典的抗氧化应激通路，Keap1/Nrf2/HO-1与DCM密切相关。研究[8]显示：高糖培养的心肌H9c2细胞中Nrf2、Keap1和HO-1水平降低，同时伴随氧化应激和细胞凋亡增加。目前，抑制Keap1并激活Nrf2/HO-1可能是防治DCM的潜在治疗途径之一。鹿茸多肽（velvet antler polypeptide，VAP）来源于我国传统名贵中药鹿茸，现代医学证实其具有抗炎和抗氧化等多种药理活性，对于心肌损伤有较好的保护作用[9]。本课题组前期研究[10]证实：VAP可通过调控转化生长因子β（transforming growth factor-β，TGF-β）改善阿霉素诱导的心肌损伤，降低心肌细胞凋亡。此外，VAP可通过降低氧化应激和炎症水平，改善乙醇引起的心肌损伤[11]。目前关于VAP对DCM改善作用的研究有限，关于其保护DCM的作用及作用机制仍需深入探讨。本研究建立DCM小鼠模型，探讨VAP对DCM的改善作用，并基于Keap1/Nrf2/HO-1信号通路阐明其抗氧化应激作用机制，以期为DCM治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物、主要试剂和仪器 60只雄性SPF级C57BL/6J小鼠，体质量18～22 g，由长春市亿斯实验动物技术有限责任公司提供，动物生产许可证号：SCXK（吉）2023-0002。VAP（批号：20230325）由长春中医药大学药学院制备，每1 g

VAP约含生药鹿茸28.9 g。二甲双胍（metformin，Met）购自天津田边制药有限公司，链脲佐菌素（streptozotocin，STZ）购自北京智杰方远科技有限公司。SOD、GSH-Px、过氧化氢酶（catalase，CAT）和丙二醛（malondialdehyde，MDA）检测试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。兔抗Keap1、Nrf2、HO-1、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白酶3(cysteine-dependent aspartate-specific protease-3，Caspase-3)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH）和辣根过氧化物酶（horseradish peroxidase，HRP）标记山羊抗兔IgG二抗以及增强化学发光（enhanced chemilumin escence，ECL）法超敏试剂盒均购自美国Proteintech公司。多功能微孔板酶标仪购自美国Thermo Fisher公司，荧光发光凝胶成像系统购自英国UVItec公司，光学显微镜购自日本OLYMPUS公司，蛋白电泳仪购自美国Bio-Rad公司，Vinno 6 Lab超声心动仪购自苏州飞依诺科技股份有限公司，手持血糖仪购自长沙三诺药业股份有限公司。

1.2 DCM模型小鼠制备、分组和给药 60只小鼠适应性喂养1周后，随机选取10只小鼠作为对照组，采用常规维持饲料饲养；其余50只小鼠用于造模，饲喂高糖高脂配方饲料（52.0%普通饲料、18.5%蛋白质、10.0%脂肪、15.0%蔗糖、3.0%蛋粉、1.5%胆固醇）。持续饲养8周后，造模小鼠禁食不禁水12 h，连续3 d腹腔注射STZ（溶于pH 4.5的柠檬酸钠缓冲液）35 $mg\cdot kg^{-1}$，对照组小鼠注射等体积柠檬酸钠缓冲液[12]。末次注射后1周内，连续3 d断尾取血测定小鼠空腹血糖（fasting blood glucose，FBG）水平，FBG≥16.7 $mmol\cdot L^{-1}$为DM造模成功，剔除造模不成功小鼠并予以补充。将造模成功的50只小鼠随机分为模型组、Met组、低剂量VAP组、中剂量VAP组和高剂量VAP组。Met组小鼠灌胃Met 250 $mg\cdot kg^{-1}$，低、中和高剂量VAP组小鼠分别灌胃100、200、300 $mg\cdot kg^{-1}$ VAP，对照组小鼠灌胃等体积生理盐水，每日1次，持续给药4周。期间除对照组外，其余各组小鼠维持高糖高脂饲料饲养。给药期间，因血糖较高，模型组和低剂量VAP组小鼠共死亡5只，均已剔除。

1.3 各组小鼠体质量和FBG水平检测 分别于给药前和给药后第1、2、3及4周，对各组小鼠断尾取血，使用手持血糖仪检测各组小鼠FBG水平，同时记录各组小鼠体质量。

1.4 各组小鼠心脏功能超声评估 药物干预结束后，对各组小鼠进行经胸壁超声心动图检查。异氟烷气体麻醉小鼠，清除左侧胸壁毛发后将小鼠固定于操作台。使用超声心动仪检测心功能，采集以下关键参数：左心室舒张末期内径（left ventricular end-diastolic diameter，LVIDd）、左心室收缩末期内径(left ventricular end-systolic diameter，LVIDs)、舒张末期左心室后壁厚度（left ventricular posterior wall thickness at end-diastole，LVPWd）、收缩末期左心室后壁厚度（left ventricular posterior wall thickness at end-systole，LVPWs）和射血分数（ejection fraction，EF）。

1.5 HE染色观察各组小鼠心肌组织病理形态表现 取各组小鼠新鲜心肌组织，于4%多聚甲醛固定24 h后取出并对目的部位进行修整。修整后的组织依次经梯度乙醇脱水，石蜡包埋。将蜡块切片（厚4 μm）脱蜡、脱水，采用苏木素及伊红染液依次染色，于光学显微镜下观察。染色后细胞核呈蓝色，细胞质呈红色。

1.6 Masson染色观察各组小鼠心肌组织纤维化程度 取各组小鼠心肌组织石蜡切片，脱蜡至水。切片依次经重铬酸钾溶液、铁苏木素染液、丽春红-酸性品红混合液、磷钼酸溶液及苯胺蓝染液染色。染色后切片用1%冰醋酸分化，无水乙醇脱水，中性树胶封片，于光学显微镜下观察。胶原纤维呈蓝色，肌纤维、纤维素和红细胞呈红色。

1.7 油红O染色观察各组小鼠心肌组织脂质分布 取各组小鼠心肌组织冰冻切片，复温干燥，固定液固定后放入油红染液避光浸染10 min，75%乙醇分化后苏木素染色，甘油明胶封片，于光学显微镜下观察。脂滴呈橘红色至鲜红色，细胞核呈蓝色。

1.8 试剂盒检测各组小鼠心肌组织中SOD、CAT和GSH-Px活性及MDA水平 取小鼠适量心肌组织置于生理盐水中，使用匀浆器制备组织匀浆，4 ℃、12 000 $r\cdot min^{-1}$离心20 min，吸取上清液。严格按照相应试剂盒说明书方法测定各组小鼠心肌组织中SOD、CAT和GSH-Px活性及MDA水平。

1.9 免疫组织化学染色观察各组小鼠心肌组织中Keap1表达情况 取各组小鼠心肌组织石蜡切片，脱蜡至水。置于柠檬酸抗原修复缓冲液中进行抗原修复，自然冷却后使用磷酸盐缓冲盐水

（phosphate-buffered saline，PBS）洗涤3次，每次5 min。切片置于3%双氧水溶液中避光孵育25 min，重复洗涤。滴加3%牛血清白蛋白室温孵育30 min封闭，4 ℃下与Keap1一抗（1∶200）孵育过夜。PBS缓冲液洗涤后滴加相应HRP标记山羊抗兔二抗（1∶500），避光室温孵育50 min。重复洗涤后，DAB显色、复染细胞核、封片，于光学显微镜下观察。

1.10 免疫荧光染色观察各组小鼠心肌组织中Nrf2和HO-1表达情况 取各组小鼠心肌组织石蜡切片，脱蜡至水。置于柠檬酸抗原修复缓冲液中进行抗原修复，自然冷却后使用PBS缓冲液洗涤3次，每次5 min。切片置于3%双氧水溶液中避光孵育25 min，重复洗涤。滴加10%山羊血清室温孵育30 min后，分别与Nrf2一抗（1∶500）或HO-1一抗（1∶200）4 ℃孵育过夜。PBS缓冲液洗涤后滴加相应HRP标记山羊抗兔二抗（1∶500），避光室温孵育50 min，之后滴加酪胺盐-CY3室温孵育20 min，DAPI复染细胞核后封片，于荧光显微镜下观察。

1.11 Western blotting法检测各组小鼠心肌组织中Keap1/Nrf2/HO-1相关蛋白表达水平 收集各组小鼠心肌组织，置于预冷的含蛋白酶抑制剂及磷酸酶抑制剂的放射性免疫沉淀分析（radioimmunoprecipitation assay，RIPA）裂解液中匀浆，静置20 min后，4 ℃、12 000 r·min^{-1}离心20 min。收集上清，二辛可宁酸（bicinchoninic acid，BCA）检测法测定蛋白浓度。使用10%的凝胶对蛋白样品进行分离，并转移至聚偏二氟乙烯聚偏二氟乙烯（polyvinylidene fluoride，PVDF）膜。室温下使用7%脱脂奶粉含吐温的Tris缓冲盐溶液（Tris-buffered saline with tween，TBST）溶液封闭2 h，TBST洗膜3次，每次5 min。4 ℃下与下列一抗孵育过夜：Keap1（1∶5 000）、Nrf2（1∶6 000）、HO-1（1∶25 000）、Caspase-3（1∶1 000）、GAPDH（1∶10 000）。TBST洗涤3次后，与相应HRP标记山羊抗兔二抗（1∶10 000）室温孵育2 h。TBST洗涤3次，滴加ECL显影液，凝胶成像系统可视化蛋白条带。采用Image J软件分析各目的条带灰度值，以GAPDH为内参，计算目的蛋白表达水平。目的蛋白表达水平＝目的蛋白条带灰度值/GAPDH条带灰度值。

1.12 统计学分析 采用SPSS 19.0软件进行统计学分析。各组小鼠体质量，FBG水平，心功能指标LVIDd、LVIDs、LVPWd、LVPWs、EF，心肌组织中SOD、CAT和GSH-Px活性及MDA水平，以及心肌组织中Keap1、Nrf2、HO-1和Caspase-3蛋白表达水平均符合正态分布，以$\bar{x}\pm s$表示。多组间样本均数比较采用单因素方差分析，组间样本均数两两比较采用Tukey检验。以$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组小鼠体质量 干预前，与对照组比较，模型组小鼠体质量明显降低（$P<0.01$）；与模型组比较，Met和各剂量VAP组小鼠体质量差异无统计学意义（$P>0.05$）。干预后，与对照组比较，模型组小鼠体质量明显降低（$P<0.01$）；与模型组比较，Met组、各剂量VAP组小鼠体质量明显增加（$P<0.05$或$P<0.01$）。见表1。

表1 各组小鼠体质量

Tab. 1 Body weights of mice in various groups

（$n=10$，$\bar{x}\pm s$）

Group	Body weight				
	Before intervention	1 week after intervention	2 weeks after intervention	3 weeks after intervention	4 weeks after intervention
Control	30.24±0.38	31.09±0.24	31.60±0.31	32.10±0.22	32.60±0.40
Model	25.05±0.28*	23.95±0.54*	23.45±0.38*	22.95±0.41*	22.45±0.29*
Met	24.95±0.30	25.45±0.24△△	25.95±0.22△△	26.45±0.19△△	26.95±0.27△△
VAP					
Low dose	24.85±0.33	24.75±0.38△	24.95±0.33△	24.65±0.37△	24.63±0.28△
Medium dose	24.93±0.21	25.15±0.10△	25.65±0.23△△	26.15±0.42△△	26.65±0.23△△
High dose	25.01±0.26	25.55±0.29△△	26.15±0.27△△	26.75±0.38△△	27.35±0.36△△

*$P<0.01$ *vs* control group；△$P<0.05$，△△$P<0.01$ *vs* model group.

2.2 各组小鼠FBG水平 干预前，与对照组比较，模型组小鼠FBG水平明显升高（$P<0.01$）；与模型组比较，Met和各剂量VAP组小鼠FBG水平差异无统计学意义（$P>0.05$）。干预后，与对照组比较，模型组小鼠FBG水平明显升高（$P<0.01$）；与模型组比较，Met组、各剂量VAP组小鼠FBG水平明显降低（$P<0.05$或$P<0.01$）。见表2。

表2 各组小鼠FBG水平

Tab. 2 FBG levels of mice in various groups （$n=10$，$\bar{x}\pm s$）

Group	FBG levels				
	Before intervention	1 week after intervention	2 weeks after intervention	3 weeks after intervention	4 weeks after intervention
Control	4.20±0.41	5.00±0.38	4.50±0.23	4.30±0.34	4.60±0.21
Model	21.40±0.33*	21.00±0.36*	22.50±0.31*	22.40±0.41*	22.70±0.22*
Met	22.00±0.35	20.20±0.27△	18.50±0.34△△	15.60±0.45△△	11.10±0.26△△
VAP					
Low dose	21.60±0.51	20.60±0.38△	21.30±0.39△	21.00±0.25△	21.10±0.28△
Medium dose	21.70±0.41	20.60±0.10△	20.10±0.33△△	19.40±0.36△△	18.20±0.35△△
High dose	21.50±0.25	20.50±0.45△	19.00±0.25△△	17.50±0.43△△	15.80±0.31△△

*$P<0.01$ *vs* control group；△$P<0.05$，△△$P<0.01$ *vs* model group.

2.3 各组小鼠心脏功能超声评估 与对照组比较，模型组小鼠LVIDd和LVIDs明显升高（$P<0.05$），LVPWs和EF明显降低（$P<0.05$）。与模型组比较，Met组、中和高剂量VAP组小鼠LVIDd和LVIDs明显降低（$P<0.05$），Met组和高剂量VAP组小鼠LVPWs明显升高（$P<0.05$），Met组、中和高剂量VAP组小鼠EF明显升高（$P<0.05$）。见表3。

表3 各组小鼠心功能指标

Tab. 3 Cardiac function indexes of mice in various groups （$n=10$，$\bar{x}\pm s$）

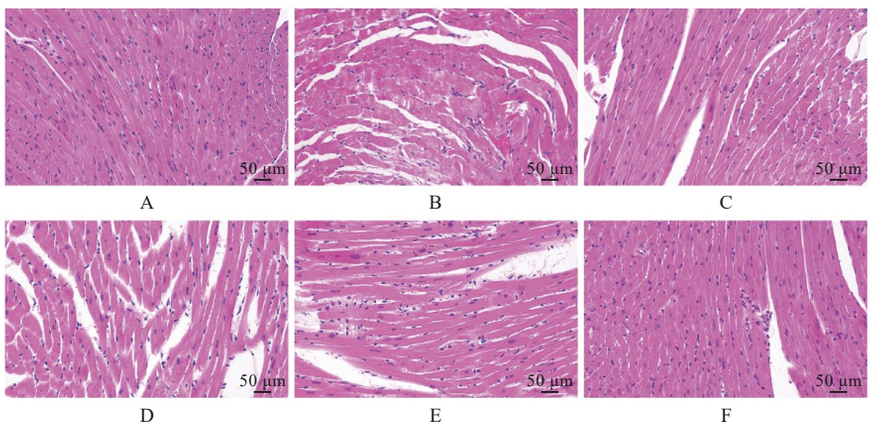
Group	LVIDd (l/mm)	LVIDs (l/mm)	LVPWd (l/mm)	LVPWs (l/mm)	EF (η/%)
Control	3.21±0.01	2.21±0.04	1.01±0.03	1.51±0.03	79.14±0.02
Model	3.91±0.05*	3.22±0.01*	1.02±0.03	1.01±0.02*	42.73±0.08*
Met	3.11±0.02△	2.24±0.03△	1.01±0.04	1.50±0.01△	73.42±0.05△
VAP					
Low dose	3.87±0.05	3.16±0.04	1.01±0.04	1.03±0.03	52.51±0.03
Medium dose	3.66±0.03△	2.97±0.03△	1.02±0.02	1.25±0.03	68.01±0.04△
High dose	3.52±0.02△	2.62±0.04△	0.99±0.02	1.32±0.04△	70.99±0.03△

*$P<0.05$ *vs* control group；△$P<0.05$ *vs* model group.

2.4 各组小鼠心肌组织病理形态表现 对照组小鼠心肌细胞排列紧密有序，细胞轮廓清晰，组织未见明显炎症细胞浸润及纤维化。模型组小鼠心肌细胞排列紊乱，细胞间隙明显增大，可见炎症细胞浸润及纤维组织增生。高剂量VAP组小鼠心肌细胞排列整齐，细胞间隙趋于正常，炎症细胞浸润及纤维组织增生现象基本消失。Met组和中剂量VAP组小鼠心肌细胞排列较整齐，细胞间隙明显减小，可见少量炎症细胞浸润及纤维组织增生。低剂量VAP组小鼠心肌细胞改善最差，细胞排列仍较为紊乱，细胞间隙明显，炎症细胞浸润及纤维组织增生现象较模型组仅有少许改善。见图1。

2.5 各组小鼠心肌组织纤维化程度 与对照组比较，模型组小鼠心肌组织中可见明显蓝色胶原纤维。与模型组比较，Met组、中和高剂量VAP组小鼠心肌组织中蓝色胶原纤维明显减少，低剂量VAP组小鼠心肌组织中仍存在明显蓝色胶原纤维。见图2。

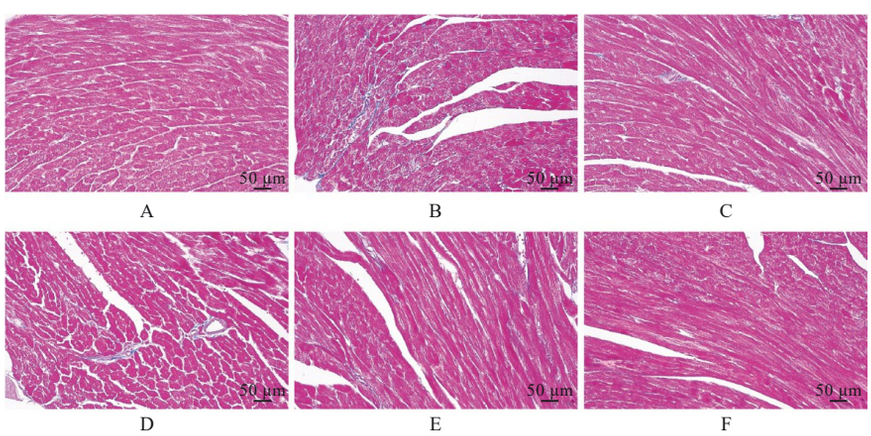
2.6 各组小鼠心肌组织脂质分布 与对照组比较，模型组小鼠心肌组织可见明显红色脂滴密集。与模



A：Control group；B：Model group；C：Met group；D：Low dose of VAP group；E：Medium dose of VAP group；F：High dose of VAP group.

图 1 各组小鼠心肌组织病理形态表现（HE）

Fig. 1 Pathomorphology of myocardium tissue of mice in various groups (HE)



A：Control group；B：Model group；C：Met group；D：Low dose of VAP group；E：Medium dose of VAP group；F：High dose of VAP group.

图 2 各组小鼠心肌组织纤维化程度（Masson）

Fig. 2 Degrees of myocardium fibrosis of mice in various groups (Masson)

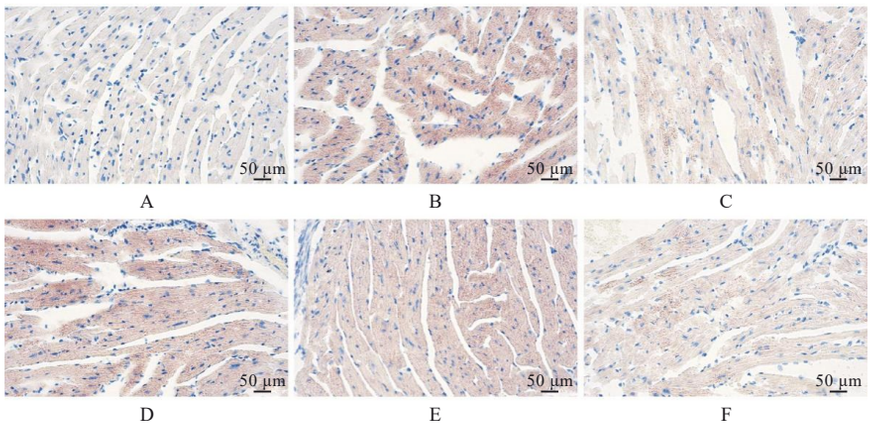
型组比较，低和中剂量VAP组和小鼠心肌组织中红色脂滴稍有减少，Met组和高剂量VAP组小鼠心肌组织中红色脂滴明显减少且两者相当。见图3。

2.7 各组小鼠心肌组织中SOD、CAT和GSH-Px活性及MDA水平 与对照组比较，模型组小鼠心肌组织中SOD、CAT和GSH-Px活性明显降低（$P<0.01$），MDA水平明显升高（$P<0.01$）。与模型组比较，Met组、中和高剂量VAP组和小鼠心肌组织中SOD、CAT和GSH-Px活性明显升高（$P<0.05$或$P<0.01$），MDA水平明显降低（$P<0.05$或$P<0.01$）。见表4。

2.8 各组小鼠心肌组织Keap1表达情况 与对照组比较，模型组小鼠心肌组织中Keap1阳性表达明显增加。与模型组比较，高剂量VAP组小鼠心肌组织中Keap1阳性表达明显降低，趋近于正常状态；Met组、低和中剂量VAP组小鼠心肌组织中存在不同程度Keap1阳性表达，其中低剂量VAP组表达最明显，Met组和中剂量VAP组小鼠心肌组织中Keap1阳性表达程度相当。见图4。

2.9 各组小鼠心肌组织中Nrf2和HO-1表达情况 荧光显微镜下，与对照组比较，模型组小鼠心肌组织中Nrf2和HO-1表达量明显降低。与模型组比较，中和高剂量VAP组小鼠心肌组织中Nrf2和HO-1表达量趋近于对照组，Met组次之，低和中剂量VAP组小鼠心肌组织中Nrf2和HO-1表达量最低，且两者相当。见图5和6。

2.10 各组小鼠心肌组织中Keap1/Nrf2/HO-1相关蛋白表达水平 与对照组比较，模型组小鼠心



A: Control group; B: Model group; C: Met group; D: Low dose of VAP group; E: Medium dose of VAP group; F: High dose of VAP group.

图3 各组小鼠心肌组织脂质分布(油红O)

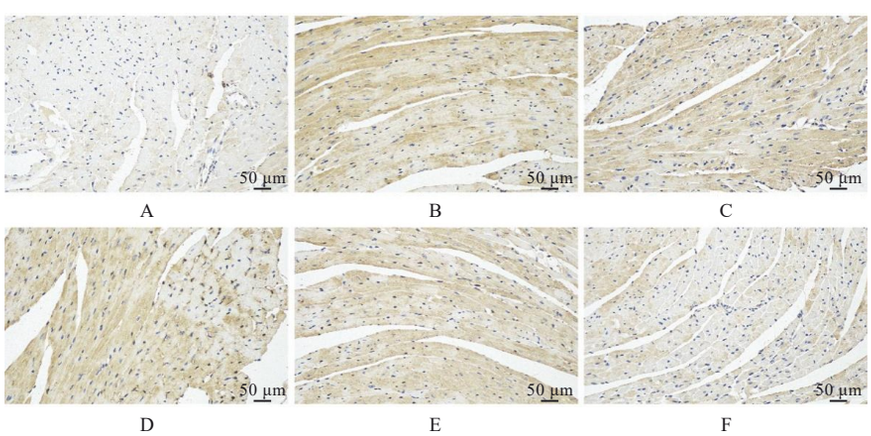
Fig. 3 Lipid distribution in myocardium tissue of mice in various groups (Oil Red O)

表4 各组小鼠心肌组织中SOD、CAT、GSH-Px活性和MDA水平

Tab. 4 Activities of SOD, CAT, GSH-Px and levels of MDA in myocardium tissue of mice in various groups ($n=10$, $\bar{x}\pm s$)

Group	SOD [λ_B/(U·mL^{-1})]	CAT [λ_B/(U·mL^{-1})]	GSH-Px [λ_B/(U·mL^{-1})]	MDA [c_B/(μmol·L^{-1})]
Control	153.50±17.94	6.33±0.27	0.75±0.06	5.18±0.58
Model	47.90±7.99*	1.79±0.10*	0.21±0.03*	16.19±0.57*
Met	130.73±10.18$^{\triangle\triangle}$	4.05±0.62$^{\triangle\triangle}$	0.63±0.03$^{\triangle\triangle}$	8.54±0.56$^{\triangle\triangle}$
VAP				
Low dose	47.83±7.85	2.18±0.38	0.22±0.02	15.03±0.67
Medium dose	68.83±8.07$^{\triangle}$	3.58±0.14$^{\triangle}$	0.37±0.02$^{\triangle}$	13.47±0.69$^{\triangle}$
High dose	111.03±5.39$^{\triangle\triangle}$	4.13±0.84$^{\triangle\triangle}$	0.55±0.04$^{\triangle\triangle}$	9.72±0.74$^{\triangle\triangle}$

$^{*}P<0.01$ *vs* control group; $^{\triangle}P<0.05$ *vs* model group, $^{\triangle\triangle}P<0.01$ *vs* model group.



A: Control group; B: Model group; C: Met group; D: Low dose of VAP group; E: Medium dose of VAP group; F: High dose of VAP group.

图4 各组小鼠心肌组织中Keap1蛋白表达情况(免疫组织化学)

Fig. 4 Expression of Keap1 protein in myocardium tissue of mice in various groups (Immunohistochemistry)

肌组织中Keap1和Caspase-3蛋白表达水平明显升高（$P<0.01$），Nrf2和HO-1蛋白表达水平明显降低（$P<0.01$）。与模型组比较，Met组、中和高剂量VAP组小鼠心肌组织中Keap1及Caspase-3蛋白

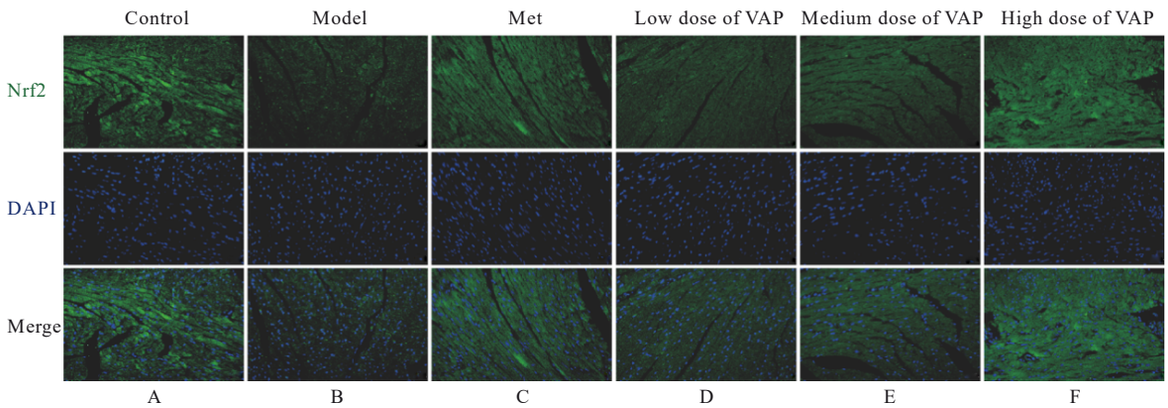


图 5 各组小鼠心肌组织中 Nrf2 表达情况（免疫荧光，×200）

Fig. 5 Expression of Nrf2 in myocardium tissue of mice in various groups (Immunofluorescence, ×200)

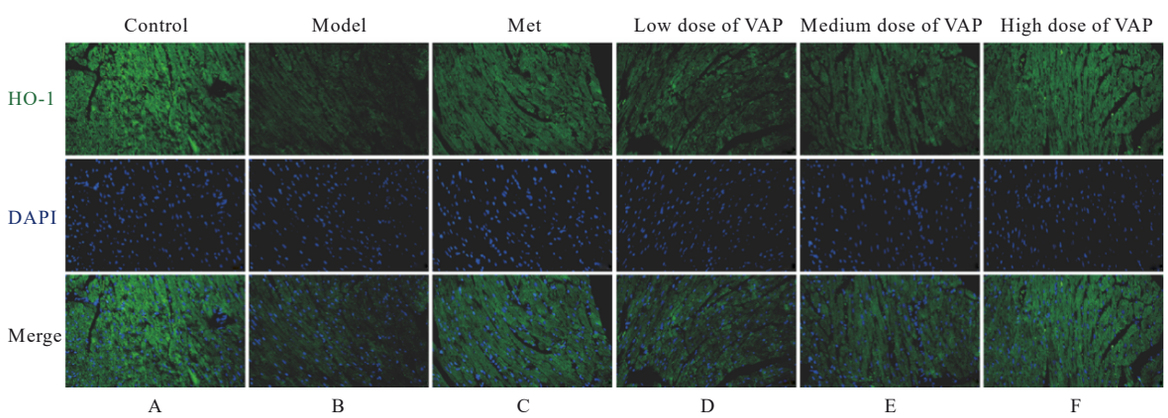
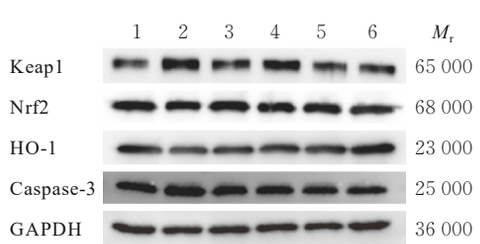


图 6 各组小鼠心肌组织中 HO-1 表达情况（免疫荧光，×200）

Fig. 6 Expression of HO-1 in myocardium tissue of mice in various groups (Immunofluorescence, ×200)

表达水平明显降低（$P<0.01$），Nrf2 和 HO-1 蛋白表达水平明显升高（$P<0.01$）。见图 7 和表 5。



Lane 1: Control group; Lane 2: Model group; Lane 3: Met group; Lane 4: Low dose of VAP group; Lane 5: Medium dose of VAP group; Lane 6: High dose of VAP group.

图 7 各组小鼠心肌组织中 Keap1/Nrf2/HO-1 相关蛋白表达电泳图

Fig. 7 Electrophoregram of expressions of Keap1/Nrf2/HO-1 related proteins in myocardium tissue of mice in various groups

3 讨 论

据统计，2021年全球约有5.37亿成年人患有DM，预计到2030年DM患病人数将增长至6.43亿，DM并发症逐渐受到更多关注[13-14]。作为DM重要并发症，DCM主要病理特征为心肌细胞肥大和心肌纤维化以及炎症、自噬、凋亡和氧化应激标志物增加[15-16]。血糖水平升高会刺激线粒体电子传递链异常活跃，导致过量自由基生成，心肌氧化还原稳态被打破，心肌细胞处于氧化应激状态，造成相关信号通路的紊乱和胞内成分的氧化修饰，引发细胞功能障碍甚至诱导细胞凋亡[17-18]。本研究结果显示：与对照组比较，模型组小鼠FBG水平升高、体质量降低，LVIDd和LVIDs升高而LVPWs和EF降低，心肌组织间隙增大、心肌细胞轮廓模糊，心肌组织充斥大量胶原纤维以及脂质液滴，心肌组织中SOD、CAT和GSH-Px活性降低，MDA水平升高，提示DCM小鼠出现明显氧化应激和心肌功能障碍。

表5 各组小鼠心肌组织中Keap1/Nrf2/HO-1相关蛋白表达水平

Tab. 5 Expression levels of Keap1/Nrf2/HO-1 related proteins in myocardium tissue of mice in various groups （$n=10$，$\bar{x}\pm s$）

Group	Keap1/GAPDH	Nrf2/GAPDH	HO-1/GAPDH	Caspase-3/GAPDH
Control	1.037±0.140	1.015±0.110	1.038±0.210	0.993±0.150
Model	1.736±0.210*	0.766±0.170*	0.726±0.210**	1.147±0.170*
Met	1.024±0.230△	0.966±0.210△	1.018±0.220△	0.905±0.220△
VAP				
Low dose	1.569±0.190	0.835±0.120	0.859±0.260	1.019±0.130
Medium dose	1.271±0.120△	0.877±0.110△	0.920±0.150△	0.907±0.180△
High dose	1.079±0.140△	0.995±0.160△	0.991±0.170△	0.859±0.110△

*$P<0.01$ *vs* control group；△$P<0.01$ *vs* model group.

肽的活性成分主要与氨基酸种类有关，与抗氧化活性相关的氨基酸残基主要存在于疏水和芳香氨基酸中，可以提供作为供氢体转移电子以清除多余的自由基[19]。VAP作为鹿茸中主要的生物活性成分，富含甘氨酸（glycine，Gly）、丙氨酸（alanine，Ala）和脯氨酸（proline，Pro）等氨基酸，是天然的抗氧化剂[20]。近年来对VAP心肌损伤氧化应激的研究有限，更多的研究[21]主要集中在调控磷脂酰肌醇3-激酶（phosphatidylinositol 3-kinase，PI3K）缓解心肌细胞凋亡以及改善心肌纤维化方面。本研究结果显示：经Met和VAP干预后，DCM小鼠各项指标出现不同程度改善。DCM小鼠体质量升高、FBG水平降低，LVIDd和LVIDs降低，LVPWs和EF升高，且给药后DCM小鼠心肌组织间隙减小，心肌细胞排列整齐，并伴随胶原纤维及脂质减少，同时心肌组织中SOD、CAT和GSH-Px活性升高，MDA水平降低，提示VAP可改善DCM小鼠心肌细胞纤维化和脂质累积，降低氧化应激并改善心功能，对DCM小鼠心肌损伤具有改善作用。

Keap1/Nrf2信号通路受损是导致心肌损伤的重要途径，其作用已在多种心肌损伤模型中得到证实。一项针对心力衰竭（heart failure，HF）模型大鼠的研究[22]显示：调控Keap1/Nrf2/缺氧诱导因子1α（hypoxia inducible factor-1α，HIF-1α）信号通路可降低心肌组织梗死区域面积和心肌细胞凋亡。除此之外，调控p62/Keap1/Nrf2信号通路可显著降低心肌氧化应激水平，改善心肌肥大及功能障碍[23]。调控Keap1/Nrf2/HO-1信号通路可改善急性胰腺炎引起的心肌损伤，通过抑制其铁死亡保护心脏[24]。本研究结果显示：DCM模型小鼠心肌组织中Keap1与Caspase-3蛋白表达水平明显升高，而Nrf2及HO-1蛋白表达水平明显降低，提示DCM小鼠心肌损伤与Keap1/Nrf2/HO-1信号通路有关；给予VAP干预后，DCM模型小鼠心肌组织中Keap1与Caspase-3蛋白表达水平明显降低，而Nrf2和HO-1蛋白表达水平明显升高，提示VAP可通过调控Keap1/Nrf2/HO-1信号通路改善DCM小鼠心肌损伤。

综上所述，VAP能改善DCM小鼠心肌损伤，有效改善心功能，其作用机制可能与VAP下调Keap1蛋白表达水平和上调Nrf2及HO-1蛋白表达水平有关。

利益冲突声明：

所有作者声明不存在利益冲突。

作者贡献声明：

黄晓巍参与实验设计、理论指导和论文撰写，郑彭予参与实验操作，李馨参与数据整理，洪传彬参与实验操作和论文撰写，李萌萌参与数据采集，律广富参与动物实验指导，徐岩参与数据分析，林喆参与论文修改及审阅，许佳明参与分子生物学实验指导和论文审阅。

[参考文献]

[1] ZHAO L，HU H R，ZHANG L，et al. Inflammation in diabetes complications：molecular mechanisms and therapeutic interventions[J]. MedComm，2024，5(4)：e516.

[2] HUO J L，FENG Q，PAN S K，et al. Diabetic cardiomyopathy：Early diagnostic biomarkers，pathogenetic mechanisms，and therapeutic interventions[J]. Cell Death Discov，2023，9(1)：256.

[3] YE Z L，WANG S T，WAN Z D，et al. Targeting NADPH oxidase-driven oxidative stress in diabetic cardiomyopathy：mechanisms and therapeutic perspectives[J]. Front Pharmacol，2025，16：1610429.

[4] 曲 萌，黄 睿，鞠欣达，等. 人参皂苷Rh1通过激活Nrf2/HO-1信号通路对糖尿病小鼠肾脏损伤的改善作用[J]. 吉林大学学报(医学版)，2024，50(6)：1565-1571.

[5] YUAN H，XU Y，LUO Y，et al. Role of Nrf2 in cell senescence regulation[J]. Mol Cell Biochem，2021，476(1)：247-259.

[6] ZHANG P H，LI N N，GU X，et al. Interaction between mitochondrial oxidative stress and myocardial fibrosis in the context of diabetes[J]. Front Endocrinol，2025，16：1596436.

[7] YU C，XIAO J H. The Keap1-Nrf2 system：a mediator between oxidative stress and aging[J]. Oxid Med Cell Longev，2021，2021：6635460.

[8] LUO J R，YAN D，LI S S，et al. Allopurinol reduces oxidative stress and activates Nrf2/p62 to attenuate diabetic cardiomyopathy in rats[J]. J Cell Mol Med，2020，24(2)：1760-1773.

[9] 王 响，鞠贵春. 鹿茸多肽的研究进展[J]. 野生动物学报，2020，41(2)：518-522.

[10] XU Y，QU X B，ZHOU J，et al. Pilose antler peptide-3.2KD ameliorates adriamycin-induced myocardial injury through TGF-β/SMAD signaling pathway[J]. Front Cardiovasc Med，2021，8：659643.

[11] ZHANG Q，LI H J，JIA D S，et al. Protective effect of deer heart peptide on cardiac injury in mice[J]. Int J Inflam，2024，2024：6661371.

[12] 季晗舒，宋纯东，王 旭，等. 益气养阴活血方对糖尿病肾病大鼠肾功能及SIRT3/SOD2/GPX4通路、铁死亡的影响[J]. 郑州大学学报(医学版)，2025，60(4)：488-492.

[13] ANDREADI A，BELLIA A，DI DANIELE N，et al. The molecular link between oxidative stress，insulin resistance，and type 2 diabetes：a target for new therapies against cardiovascular diseases[J]. Curr Opin Pharmacol，2022，62：85-96.

[14] ANTAR S A，ASHOUR N A，SHARAKY M，et al. Diabetes mellitus：Classification，mediators，and complications；A gate to identify potential targets for the development of new effective treatments[J]. Biomed Pharmacother，2023，168：115734.

[15] ZHENG W C，LI D，GAO X，et al. Carvedilol alleviates diabetic cardiomyopathy in diabetic rats[J]. Exp Ther Med，2019，17(1)：479-487.

[16] DEWANJEE S，VALLAMKONDU J，KALRA R S，et al. Autophagy in the diabetic heart：a potential pharmacotherapeutic target in diabetic cardiomyopathy[J]. Ageing Res Rev，2021，68：101338.

[17] DE GEEST B，MISHRA M. Role of oxidative stress in diabetic cardiomyopathy[J]. Antioxidants (Basel)，2022，11(4)：784.

[18] TASHKANDI A J，GORMAN A，MCGOLDRICK MATHERS E，et al. Metabolic and mitochondrial dysregulations in diabetic cardiac complications[J]. Int J Mol Sci，2025，26(7)：3016.

[19] XIA P J，LIU D Y，JIAO Y Y，et al. Health effects of peptides extracted from deer antler[J]. Nutrients，2022，14(19)：4183.

[20] LIU C，XIA Y S，HUA M，et al. Functional properties and antioxidant activity of gelatine and hydrolysate from deer antler base[J]. Food Sci Nutr，2020，8(7)：3402-3412.

[21] ZHAO L H，MI Y，GUAN H Y，et al. Velvet antler peptide prevents pressure overload-induced cardiac fibrosis *via* transforming growth factor (TGF)-β1 pathway inhibition[J]. Eur J Pharmacol，2016，783：33-46.

[22] HU L，XU Y N，WANG Q，et al. Yiqi Huoxue Recipe inhibits cardiomyocyte apoptosis caused by heart failure through Keap1/Nrf2/HIF-1α signaling pathway[J]. Bioengineered，2021，12(1)：969-978.

[23] GUO Y Y，LI D，CEN X F，et al. Diosmetin protects against cardiac hypertrophy *via* p62/Keap1/Nrf2 signaling pathway[J]. Oxid Med Cell Longev，2022，2022：8367997.

[24] CUI Q R，WANG W，SHI J H，et al. Glycyrrhizin ameliorates cardiac injury in rats with severe acute pancreatitis by inhibiting ferroptosis *via* the Keap1/Nrf2/HO-1 pathway[J]. Dig Dis Sci，2024，69(7)：2477-2487.