

基于线粒体自噬-NLRP3 炎症小体途径探索丹菱片的“双心”效应机制

高婷婷, 范静, 尹诗萌, 杨柏松*

(中国人民解放军北部战区空军医院 心血管内科, 辽宁 沈阳 110042)

摘要:目的 探讨丹菱片通过调控线粒体自噬-NLRP3 炎症小体通路改善心血管疾病与抑郁共病(“双心”疾病)的作用机制。方法 构建慢性心肌缺血联合慢性不可预知性轻度应激(chronic unpredictable mild stress, CUMS)复合大鼠模型,随机分为空白对照组、模型组、丹菱片组(0.5 g·kg⁻¹)和3-MA组(自噬抑制剂,15 mg·kg⁻¹)。通过糖水偏好实验、强迫游泳试验评估抑郁样行为,通过酶联免疫吸附实验(enzyme-linked immuno sorbent assay, ELISA)检测血清心肌损伤标志物肌酸激酶(creatinase, CK)、肌酸激酶同工酶(creatinase-MB, CK-MB)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、心肌肌钙蛋白I(cardiac troponin I, cTnI)、神经递质5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)、多巴胺(dopamine, DA)和炎症因子水平,通过蛋白质印迹法(Western blot)分析海马组织自噬相关蛋白(microtubule-associated protein 1 light chain 3 isoform-II/I, LC3-II/I)、Beclin-1、p62及NLRP3炎症小体通路(NOD-like receptor family pyrin domain containing 3, NLRP3)、cleaved-caspase-1、白细胞介素-1(interleukin-1, IL-1 β)、白细胞介素-18(interleukin-18, IL-18)表达。结果 丹菱片干预显著改善模型大鼠快感缺失(蔗糖偏好率提升61.2%)和行为绝望(强迫游泳静止时间缩短53.5%),降低心肌损伤标志物(CK-MB下降38.6%, cTnI下降33.8%),同时下调血清IL-1 β 水平(下降25.5%)并提升5-HT(107.8%)和DA(75.7%)含量。研究显示,丹菱片通过抑制自噬过度激活,降低LC3-II/I比值及NLRP3炎症小体通路NLRP3及下游cleaved caspase-1、IL-1 β 及IL-18表达水平,阻断Toll样受体4/核转录因子- κ B(Toll-like receptor 4/nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, TLR4/NF- κ B)信号转导,减少p65核转位。结论 丹菱片通过调控线粒体自噬-NLRP3/NF- κ B炎症轴,同步改善心肌缺血损伤和抑郁样行为,其“双心”保护效应可能与抑制神经炎症-单胺递质失衡的交互作用相关,为中药多靶点治疗心身共病提供理论依据。

关键词: 丹菱片; 慢性心肌缺血; 慢性温和不可预知应激; NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3; 线粒体自噬

中图分类号: R 96 **文献标志码:** A

引用本文: 高婷婷, 范静, 尹诗萌, 等. 基于线粒体自噬-NLRP3 炎症小体途径探索丹菱片的“双心”效应机制[J]. 沈阳药科大学学报, 2026, 43(4): 354-362.

Cite this article as: GAO Tingting, FAN Jing, YIN Shimeng, et al. Exploration of the "dual heart" effect mechanism of Danlou tablets based on mitochondrial autophagy NLRP3 inflammasome pathway[J]. Journal of Shenyang Pharmaceutical University, 2026, 43(4): 354-362.

心血管疾病作为威胁国民健康的首要杀手,其3.3亿的庞大患病人群与高死亡率特征亟待关注^[1]。流行病学证据揭示,心肌梗死患者中42.7%的抑郁共病率具有显著临床意义^[2]。作为独立危险因素,抑郁不仅显著增加并发症风险并延长住院周期,更与冠心病患者的预后质量及死亡风险存在密切关联。在此背景下,“双心”异常,即心血管疾病与精神心理障碍共病的防治机制研究已成为跨学科领域的重要命题。

近年研究突破揭示,免疫-炎症级联反应在慢性疾病进展中扮演核心角色,而核苷酸结合寡聚化结构域(nucleotide-binding oligomerization

domain, NOD)样受体NLRP3炎症小体作为关键调控枢纽,被发现广泛参与动脉粥样硬化、心肌缺血再灌注损伤及心力衰竭等心血管疾病进程^[3-4]。具体而言,NLRP3激活后通过级联放大效应促使caspase-1活化,进而介导IL-1 β 、IL-18等促炎因子的成熟释放,形成持续炎症微环境^[5]。值得关注的是,抑郁症患者外周及中枢系统同样呈现IL-1 β 、IL-6、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α)等炎性标志物的异常升高,这些因子通过多重通路,包括抑制单胺类神经递质合成、诱发下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA轴)功能紊乱、增强谷氨酸兴奋毒性及损害

收稿日期:2025-04-12

基金项目:辽宁省自然科学基金面上资助项目(2022-MS-050)

作者简介:高婷婷(1988-),女,主治医师,硕士,主要从事冠状动脉粥样硬化性心脏病的诊疗研究, E-mail ttgao88@163.com;

*通信作者:杨柏松(1970-),男,主任医师,硕士,主要从事冠心病介入治疗研究, E-mail 2753403052@qq.com。

神经可塑性等,最终导致认知情绪功能障碍^[6-7]。基于上述证据,我们提出假说:炎症因子异常可能是心血管与精神障碍共病的“分子桥梁”。

作为细胞稳态维持的重要机制,自噬系统与炎症反应存在动态互作关系。研究发现,线粒体自噬可通过双向调节 NLRP3 炎症小体活性影响炎症进程:一方面促进其初始激活,另一方面通过磷酸化修饰抑制过度活化,从而调控 IL-1 β /IL-18 的分泌^[8]。然而,线粒体自噬-NLRP3 信号轴是否参与“双心”疾病的发生发展,以及二者之间的分子互作网络和信号通路交叉调控机制仍亟待阐明。

本研究选择丹菱片——这一兼具降脂、抗动脉硬化、改善心肌缺血等多效性的痰瘀同治经典方剂为干预对象^[9],通过构建慢性心肌缺血合并 CUMS 应激的复合动物模型,首次从线粒体自噬-NLRP3 炎症轴调控视角,系统解析其“双心”保护效应的分子基础。该研究不仅为拓展丹菱片的临床应用提供实证依据,更有望揭示中药多靶点调控网络的作用规律,为研究心身共治新策略奠定理论基石。

1 仪器与材料

TGL-16 离心机(广州吉迪仪器有限公司),IMS-20 制冰机(常熟雪科电器有限公司),HH-W-600 水浴锅(常州亿通分析仪器制造有限公司),GNP9160 恒温培养箱(上海五久自动化设备有限公司),DYY-6C 电泳仪(北京六一生物科技有限公司),Cmax plus 酶标仪(美国 Molecular 公司),AX-II 暗匣(上海掌动医疗科技有限公司),9000F MarkII 扫描仪(佳能中国有限公司),CX21 普通光学显微镜(日本 Olympus 公司),Nikon 正置荧光拍照显微镜(日本 Nikon 公司)。

3-MA(美国 Abmole 公司),异丙肾上腺素(HY-B0468,美国 MCE 公司),CKMB ELISA 试剂盒(ELK2693,科鹿生物有限公司),LDH 试剂盒(A020-2,广州普信生物科技有限公司),AST 试剂盒(C010-2-1,南京建成生物有限公司),cTNI ELISA 试剂盒(ELK6263,武汉伊莱瑞特生物

科技有限公司),大鼠 IL-1 β ELISA 试剂盒(批号:ELK1272)、5-HT ELISA 试剂盒(批号:ELK7830)、DA ELISA 试剂盒(批号:ELK7879)(以上试剂盒均由中国 ELK Biotechnology 公司提供),GAPDH(批号:ab181602)、p62(批号:ab314504)、一抗 NLRP3(批号:ab263899)(以上均由英国 abcam 公司提供),Cleaved caspase1(批号:AF4005,江苏亲科生物研究中心),IL-1 β (批号:sc-12742,美国 Santa 公司),TLR4(批号:19811-1-AP)、IL-18(批号:10663-1-AP)(以上均由武汉三鹰公司提供),Beclin-1(批号:#3495)、LC3(批号:#12741)、p-p65(批号:#3031)、p-IKB α (批号:#2859)(以上均由美国 CST 公司提供),p65(批号:10745-1-AP,美国 PTG 公司),丹菱片(批号:Z20050244,吉林康乃尔药业有限公司)。

40 只 SPF 级 SD 大鼠,雄性,8~10 周,体质量(200 \pm 20)g,由武汉恒意赛生物技术股份有限公司提供[实验动物使用许可证号:SYXK(鄂)2022-0124]。所有动物实验均经中国医科大学动物实验伦理委员会批准(批件号:CMUKT2024166)。

2 方法

2.1 慢性心肌缺血合并慢性不可预知性轻度应激(chronic unpredictable mild stress, CUMS)复合大鼠模型建立

选取 40 只 SPF 级雄性 SD 大鼠[体质量(200 \pm 20)g],经适应性饲养 7 d 后,采用随机数字表法将其划分为 4 个实验组别($n=10$):空白对照组、慢性心肌缺血合并 CUMS 复合模型组(复合模型组)、丹菱片干预组(丹菱片组)、3-MA 干预组(3-MA 组)。除空白对照组维持标准饲养条件外,其余各组均接受为期 28 d 的慢性不可预知温和应激(chronic unpredictable mild stress, CUMS)方案,该方案采用 7 种随机组合应激因子(表 1),具体方法包括束缚 30 min、黑白颠倒 24 h、4 $^{\circ}$ C 冷水游泳 10 min、潮湿垫料 12 h、夹尾 5 min、撤食 24 h、撤水 24 h 等 7 种不同的刺激因素。

Table 1 Stimulation methods for CUMS modeling

表 1 CUMS 造模刺激方法

时间	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 6 天	第 7 天
第一周	束缚	游泳	撤食	昼夜颠倒	潮湿垫料	夹尾	撤水
第二周	昼夜颠倒	束缚	夹尾	撤食	撤水	游泳	潮湿垫料
第三周	撤食	昼夜颠倒	游泳	夹尾	潮湿垫料	撤水	束缚
第四周	夹尾	潮湿垫料	昼夜颠倒	束缚	撤水	游泳	撤食

在造模周期最后 72 h, 通过皮下注射途径建立慢性心肌缺血合并 CUMS 复合模型。具体操作如下: 复合模型组及各治疗干预组大鼠颈背部及双后肢内侧进行多点(每只 5~6 点)皮下注射异丙肾上腺素(isoproterenol, ISO, $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), 而空白对照组动物则接受等体积生理盐水注射^[10]。

2.2 动物给药

各组实验动物按既定方案实施干预措施: 空白对照组维持常规饲养条件; 复合模型组每日给予等体积生理盐水灌胃; 丹莪片组和 3-MA 组于造模成功后, 分别通过灌胃途径给予相应药物混悬液(给药体积 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$)。具体药物剂量丹莪片 $0.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、3-MA 组按照 $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 腹腔注射 3-MA 水溶液, 在第 1 天和造模前 15 min 两次注射, 每日固定时间单次给药, 持续干预 7 d。

2.3 糖水偏爱率测定方法

采用双瓶选择法评估抑郁样行为, 具体流程包括 3 个阶段: 1) 预适应期(24 h): 每笼放置两瓶 1% 蔗糖溶液; 2) 位置训练期(24 h): 将其中一瓶置换为蒸馏水, 并于 12 h 进行液瓶位置互换; 3) 正式测试期: 禁食水 24 h 后, 单笼饲养条件下同时提供蔗糖溶液与蒸馏水各一瓶。通过电子天平(精度 0.01 g)测定 2 h 内液体消耗量, 蔗糖偏好指数按公式(1)计算。

$$\text{糖水偏爱率} = \frac{\text{糖水消耗克数}}{\text{糖水消耗克数} + \text{蒸馏水消耗克数}} \times 100\% \quad (1)$$

2.4 强迫游泳静止时间

应用改良 Porsolt 强迫游泳实验评估抑郁状态, 实验装置为透明圆柱形容器(高度 45 cm, 直径 30 cm), 注入深度 25 cm 的恒温水(20 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 。将大鼠垂直置于水中, 连续采集 5 min 游泳行为。静止时间定义为: 动物仅保持必要呼吸运动(鼻部露出水面), 四肢无主动划水动作的累计时长。所有行为数据由双盲法处理的观察者进行离线分析。

2.5 血清心肌损伤标志物定量检测

末次给药后 60 min, 通过眶静脉穿刺术采集全血样本。血样经 4°C 静置 30 min 后, 以 $6000 \times g$ 离心力进行低温离心 10 min, 分离获得血清组分。采用 ELISA 酶联免疫吸附测定定量分析心肌损伤生物标志物: 肌酸肌酶(CK)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、乳酸脱氢酶(LDH)、天

门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)的酶活性水平, 以及心肌肌钙蛋白 I(cTnI)的蛋白表达量。

2.6 神经递质与炎性介质浓度测定

同步采集的血清样本经 $12000 \times g$ 高速离心(4°C , 10 min)后, 使用超低温冻存管分装保存于 -80°C 。采用 ELISA 法检测单胺类神经递质 5-羟色胺(5-HT)、多巴胺(dopamine, DA), 以及促炎因子 IL-1 β 的浓度。

2.7 海马组织自噬-炎症信号通路蛋白表达水平测定

大鼠取血后迅速分离海马组织, 采用体积分数 1% RIPA 裂解缓冲液提取总蛋白。经二辛可宁酸法(bicinchoninic acid assay, BCA)定量后, 取 $30 \mu\text{g}$ 蛋白样品进行 SDS-PAGE 电泳(体积分数 10% 分离胶, 80 V 恒压转印至 PVDF 膜)。免疫印迹实验检测自噬标志物(LC3B、Beclin-1、p62)、NLRP3 炎症小体通路蛋白(NLRP3、cleaved-caspase-1、IL-1 β 、IL-18)、TLR4/NF- κ B 信号轴(TLR4、p-I κ B α 、p-p65)。采用 ECL 化学发光系统(Bio-Rad)显影, Image Lab 6.0 软件进行灰度值定量。

2.8 NF- κ B p65 核转位免疫荧光定位

心肌组织石蜡切片经二甲苯梯度脱蜡后, 进行热诱导抗原修复(柠檬酸钠缓冲液, pH 6.0, 95°C 20 min)。5% BSA 封闭非特异性位点, 置于 37°C 1 h 后, 4°C 孵育 NF- κ B p65 一抗过夜, 相应二抗与 DAPI 核染同步进行, 封片采用 AladdinTM DABCO 抗淬灭剂。激光共聚焦显微镜下观察亚细胞定位, 核质比通过 Image J 1.53e 软件定量分析。

2.9 数据统计分析

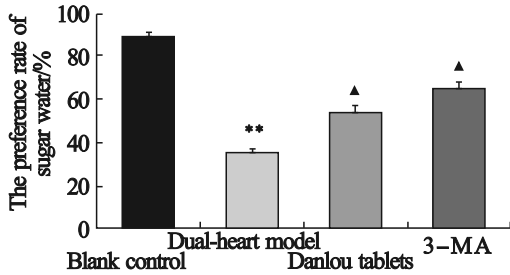
所有实验数据采用 SPSS 26.0 进行分析。计量资料以平均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 多组比较经 Shapiro-Wilk 正态性检验及 Levene 方差齐性检验后, 选用单因素 ANOVA 联合 LSD 法(方差齐)或 Welch 校正(方差不齐), $P < 0.05$ 视为具有统计学显著性。

3 结果

3.1 丹莪片对双心模型大鼠快感缺失表型的调节作用

实验数据显示, 双心模型组大鼠的糖水偏好率较空白对照组降低 39.22% ($P < 0.01$), 提示慢

性应激诱导的抑郁样行为建模成功。丹莪片及自噬抑制剂 3-MA 组干预后,复合模型大鼠的糖水偏好率分别恢复至对照组的 61.2% 和 72.87% (均 $P < 0.01$)。这些发现提示,丹莪片及 3-MA 均可明显改善双心模型大鼠的快感缺失(图 1)。



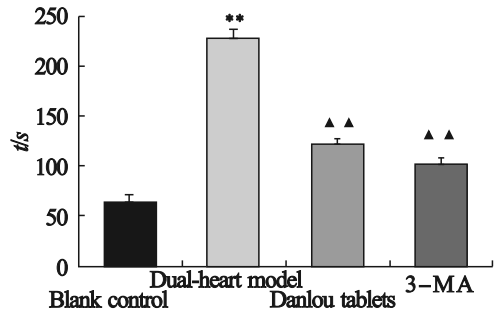
** — $P < 0.01$, Compared with the control group; ▲ — $P < 0.05$, Compared with the model group.

Fig. 1 Effect of Danlou tablets on the preference rate of sugar water in the rats of "dual-heart" model group

图 1 丹莪片对“双心”模型组大鼠糖水偏好率的影响

3.2 丹莪片对行为绝望状态的干预效应

强迫游泳测试中,模型组大鼠强迫游泳静止时间较对照组延长至 $(228.92 \pm 7.28) s$ ($P < 0.01$)。丹莪片及 3-MA 干预显著缩短强迫游泳静止时间至 $(122.55 \pm 4.19) s$ 及 $(102.75 \pm 5.84) s$ (均 $P < 0.01$ vs 模型组),表明丹莪片及 3-MA 可激发双心模型大鼠的求生欲望(图 2)。



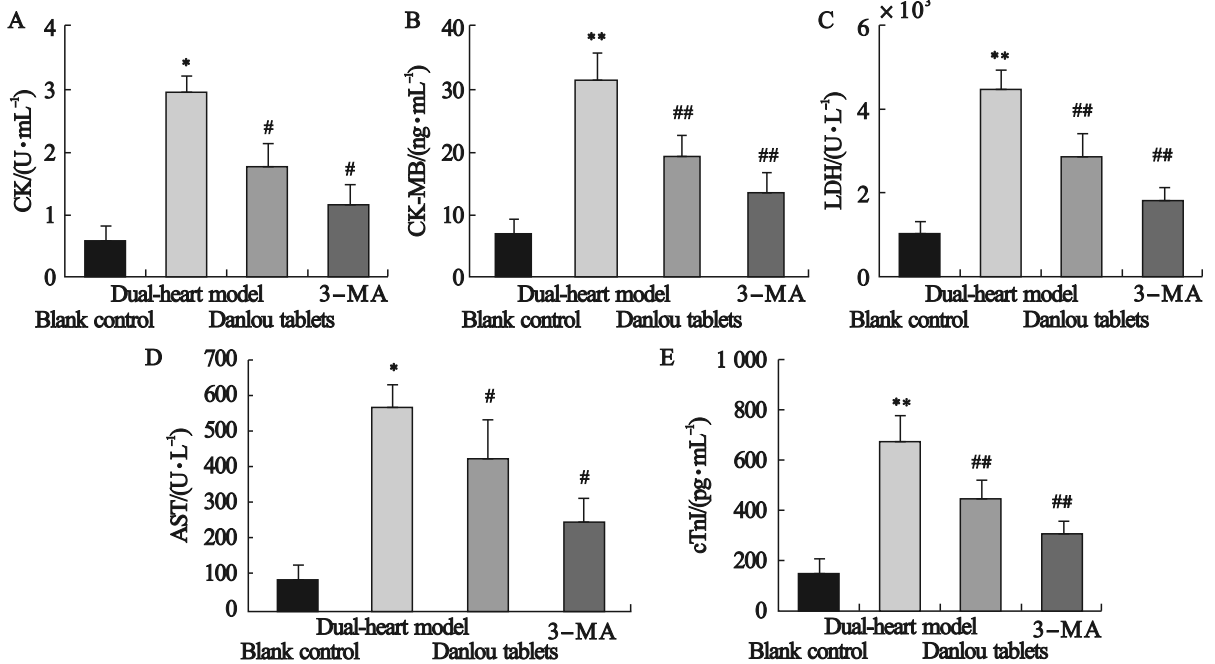
** — $P < 0.01$, Compared with the control group; ▲▲ — $P < 0.01$, Compared with the model group.

Fig. 2 Effect of Danlou tablets on immobility time in forced swimming test in rats of the "dual-heart" model group ($\bar{x} \pm s$)

图 2 丹莪片对“双心”模型组大鼠强迫游泳静止时间的影响($\bar{x} \pm s$)

3.3 丹莪片对“双心”模型大鼠心肌损伤标志物的药理学评价

与空白对照组相比,模型组大鼠血清心肌酶谱呈典型损伤特征:AST(6.6 倍)、CK(5.0 倍)、CK-MB(4.5 倍)、LDH(4.2 倍)及 cTnI(4.3 倍)活性均显著升高(均 $P < 0.05$)。丹莪片干预使上述指标回调至对照组的 1.2 ~ 1.4 倍(均 $P < 0.05$),与 3-MA 组保持一致,提示丹莪片的心肌保护作用可能涉及自噬能量代谢调控(图 3)。



A—Activity of CK; B—Activity of CK-MB; C—Activity of LDH; D—Activity of AST; E—Content of troponin. * — $P < 0.05$, ** — $P < 0.01$, Compared with the control group; # — $P < 0.05$, ## — $P < 0.01$, Compared with the model group.

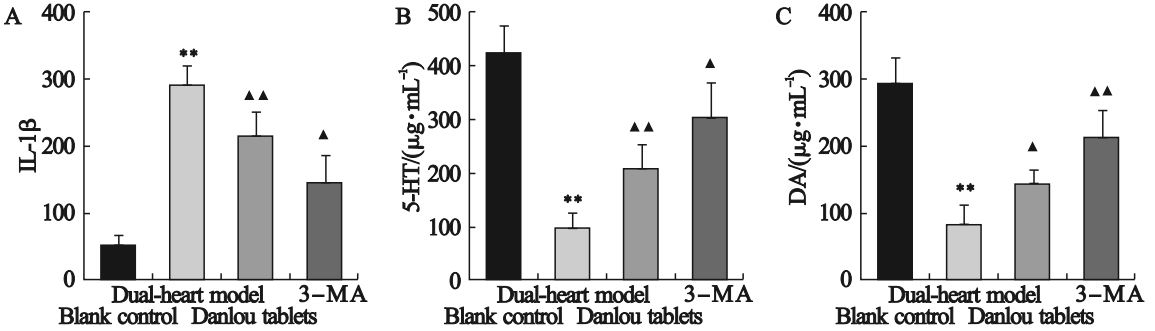
Fig. 3 The effect of Danlou tablets on myocardial enzyme activity and troponin content in rats with "dual-heart" model ($\bar{x} \pm s$)

图 3 丹莪片对“双心”模型大鼠心肌酶活性及肌钙蛋白含量的影响($\bar{x} \pm s$)

3.4 丹莪片对“双心”模型大鼠神经炎症免疫轴的调节效应

ELISA 检测显示,模型组血清 IL-1 β 水平升高至(291.22 \pm 29.56)pg \cdot mL $^{-1}$ ($P < 0.01$),5-HT 和 DA 浓度分别下降至 (99.06 \pm 25.33) ng \cdot mL $^{-1}$ 和 (83.03 \pm 29.97) ng \cdot mL $^{-1}$ (均 $P < 0.01$)。丹莪片干

预显著降低 IL-1 β 至 (216.751 \pm 36.36)pg \cdot mL $^{-1}$ ($P < 0.05$), 同时提升 5-HT [(205.93 \pm 42.13)ng \cdot mL $^{-1}$]和 DA [(145.9 \pm 20.34)ng \cdot mL $^{-1}$]水平(均 $P < 0.05$),表明丹莪片可调控神经递质-免疫炎症平衡调节功能(图4)。



A—Contents of IL - 1 β ; B—Contents of 5 - HT; C—Contents of 5 - HT; **— $P < 0.01$, Compared with the control group; Δ — $P < 0.05$, $\Delta\Delta$ — $P < 0.01$, Compared with the model group.

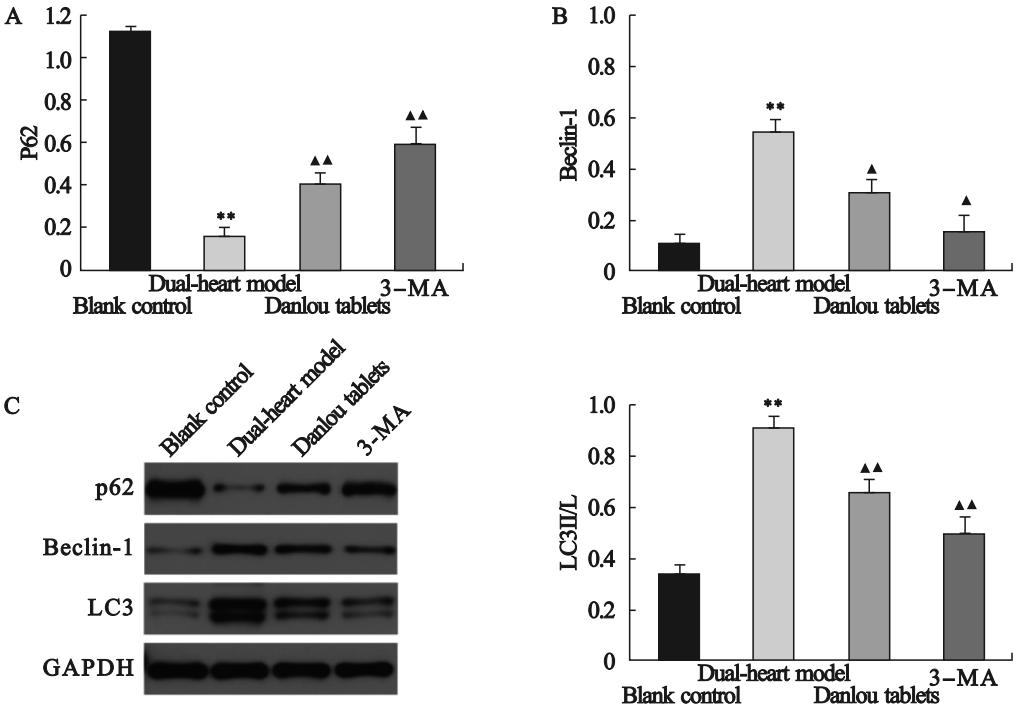
Fig. 4 Effects of Danlou tablets on the contents of IL-1 β and monoamine neurotransmitters 5-HT and DA in serum of rats in the "dual-heart" model group($\bar{x} \pm s$)

图4 丹莪片对“双心”模型组大鼠血清中 IL-1 β 和单胺类神经递质 5-HT、DA 含量的影响($\bar{x} \pm s$)

3.5 丹莪片对“双心”大鼠海马自噬相关蛋白表达的影响

Western blot 分析显示,模型组海马 p62 蛋白表达量显著降低($P < 0.01$),Beclin-1 及 LC3-II/I 蛋白表达比值均显著上调($P < 0.01$)。丹莪片和

3-MA 干预后,p62 蛋白表达水平有所上升,而 Beclin-1 和 LC3 蛋白表达水平均明显降低且具有统计学意义($P < 0.01$),表明其通过抑制自噬活性发挥“双心”效应(图5)。



A—Protein expression of p62; B—Protein expression of Beclin - 1; C—Protein expression of LC3 II / LC3 I ; **— $P < 0.01$, Compared with the control group; Δ — $P < 0.05$, $\Delta\Delta$ — $P < 0.01$, Compared with the model group.

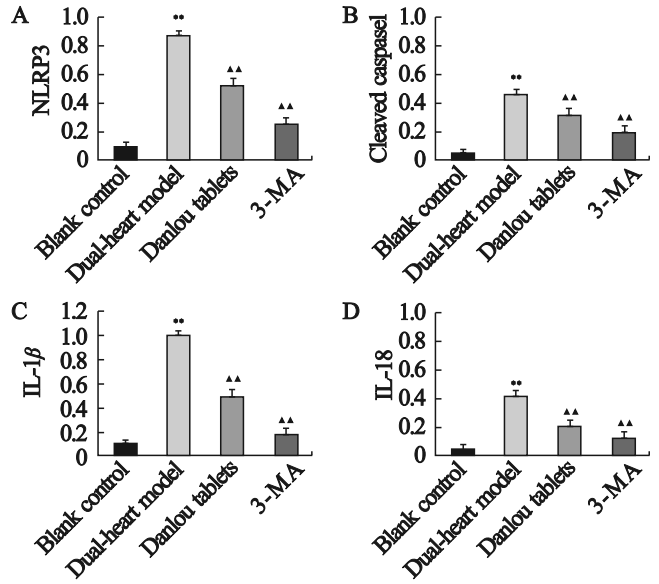
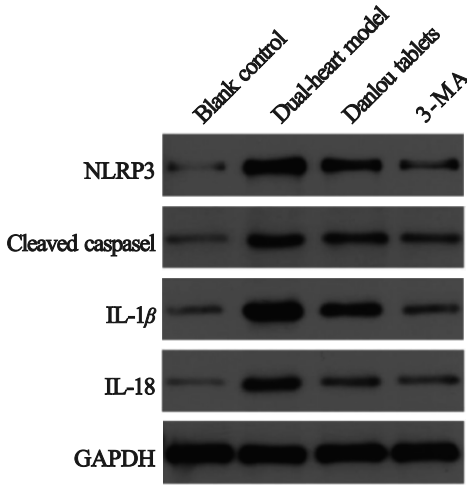
Fig. 5 Effects of Danlou tablets on the expression of autophagy-related proteins in the hippocampus of "double-heart" rats

图5 丹莪片对“双心”大鼠海马自噬相关蛋白表达的影响

3.6 丹莪片对“双心”大鼠 NLRP3 炎症小体通路的调控机制

模型组海马 NLRP3、cleaved caspase-1、IL-1 β 及 IL-18 蛋白表达水平显著上调(均 $P < 0.01$)。

丹莪片及 3-MA 组干预使上述炎症因子表达降低(均 $P < 0.01$),提示丹莪片通过负向调控自噬活性,阻断 NLRP3 炎症小体信号级联抑制神经炎症(图 6)。



A—Protein expression of NLRP3; B—Protein expression of Cleaved caspase 1; C—Protein expression of IL-1 β ; D—Protein expression of IL - 18; ** — $P < 0.01$, Compared with the control group; ^^ — $P < 0.01$, Compared with the model group.

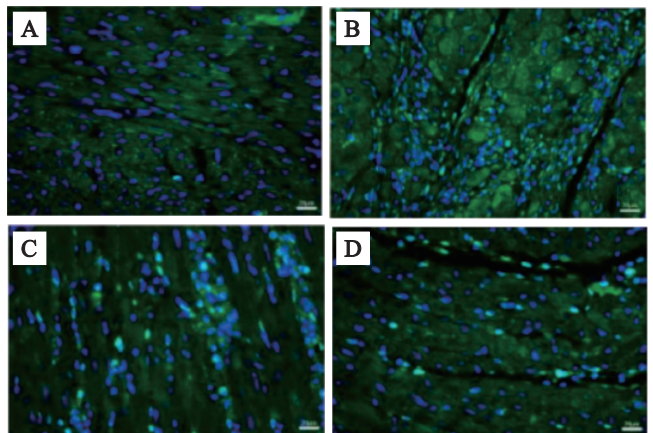
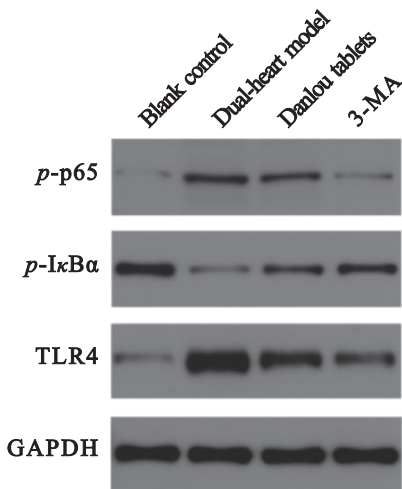
Fig. 6 Regulation mechanism of Danlou tablets on the NLRP3 inflammasome pathway in "double-heart" rats

图 6 丹莪片对“双心”大鼠 NLRP3 炎症小体通路的调控机制

3.7 丹莪片对“双心”大鼠海马中 TLR4/NF- κ B 信号转导轴的调控

与对照组相比,“双心”模型组大鼠海马中 p -p65 及 TLR4 的蛋白水平显著升高,同时 p -I κ B α 的蛋白水平降低,丹莪片及 3-MA 处理能够逆转上述蛋白表达的变化。此外,本文作者还发现

“双心”模型组 p65 蛋白的入核水平较空白对照组明显增加,和 p -p65 表达的趋势变化相一致,丹莪片及 3-MA 处理同样可以抑制 p65 向细胞核的易位。上述结果表明,丹莪片可通过调控 NF- κ B 信号转导抑制下游炎症反应(图 7)。



A—Blank control group; B—Dual-heart model group; C—Danlou tablets group; D—3-MA group.

Fig. 7 Regulation of Danlou tablets on the TLR4/NF- κ B signaling axis in the hippocampus of "dual-heart" rats

图 7 丹莪片对“双心”大鼠海马中 TLR4/NF- κ B 信号转导轴的调控

4 讨论

当代心血管疾病诊疗已突破传统生物医学模式,逐渐向心身整合医学方式转变。流行病学数据显示,心理应激作为重要的致病因素,可通过持续激活 HPA 轴及交感神经系统,促进儿茶酚胺和皮质醇过量分泌,进而诱发神经内分泌-免疫网络失衡。特别是抑郁症与全因死亡率增加、心血管疾病的发展以及现有心血管疾病患者的预后恶化有关^[11]。由此可见,如何有效地防治“双心”异常疾病已成为心血管内科和精神心理领域的热点问题。

然而,传统西医治疗方案虽能短期控制焦虑抑郁症状,却受限于药物心脏毒性、代谢干扰及起效延迟等瓶颈。相较而言,中医药基于“形神一体”理论,构建“血脉之心”与“神明之心”协同调控体系,通过清除氧自由基,减轻氧化应激损伤;调节炎症因子级联反应;维持线粒体自噬稳态;抑制病理性心肌细胞凋亡等多维度作用机制展现独特优势^[12-14]。

作为痰瘀同治经典方剂,丹萎片(含瓜蒌皮/薤白/葛根/川芎)通过多靶点作用实现心身共治^[15],本课题组前期研究显示其可使稳定型心绞痛患者运动耐量提升,心血管事件发生率下降,并显著降低焦虑抑郁量表评分^[16]。众所周知,心肌缺血的核心病理特征之一是心肌细胞膜完整性破坏,导致心肌特异性酶(如 AST、CK、CK-MB、LDH)及心肌肌钙蛋白 I(cTnI)大量释放入血,本研究显示,丹萎片可显著降低“双心”模型大鼠血清中上述心肌损伤标志物的活性水平,提示其通过稳定心肌细胞膜结构或减少缺血诱导的细胞凋亡/坏死,直接减轻心肌组织损伤。值得注意的是,cTnI 作为心肌损伤的“金标准”指标,其水平下降进一步佐证了丹萎片对心肌缺血的核心干预效应。在“双心疾病”模型中,心肌缺血与抑郁样行为通过“炎症-单胺类神经递质失衡”机制相互促进^[17]。本文作者研究发现,丹萎片干预后血清 IL-1 β 水平显著降低,同时伴随 5-羟色胺(5-HT)和多巴胺(DA)水平升高。IL-1 β 作为促炎因子,可通过激活 HPA 轴、抑制色氨酸羟化酶活性等方式减少 5-HT 合成;而 DA 能系统功能障碍则与动机缺乏和快感缺失密切相关。丹萎片对 IL-1 β /5-HT/DA 轴同步调节,最终表现为糖水偏好率(快感缺失标志)提升和强迫游泳静止时

间(行为绝望指标)缩短。这提示其抗抑郁作用可能部分源于阻断炎症对单胺类神经递质系统的抑制。

抑郁症的神经病理机制与自噬失衡及炎症信号过度激活密切相关。研究表明,抑郁症模型大鼠海马区自噬体异常增多,表现为自噬标志物 LC3-II/LC3-I 比值升高,伴随神经元损伤及凋亡。自噬的过度激活可能通过线粒体等关键细胞器导致突触功能受损,或通过激活 NLRP3 炎症小体加剧神经炎症^[18]。此外,自噬与炎症通路的交互具有双向性;体外实验显示,抗抑郁药可诱导野生小鼠胚胎成纤维细胞 LC3B-II 升高,同时抑制 NLRP3 活性,提示自噬体可能通过包裹并降解 NLRP3 前体抑制其组装^[19]。然而,这种调控关系在病理状态下可能被破坏——当 PI3K/AKT 信号通路异常活化时,AKT 磷酸化导致 I κ B α 降解,使 NF- κ B 核易位并启动促炎因子(IL-1 β 、IL-18)转录,形成炎症-自噬恶性循环^[20]。

基于上述病理网络,丹萎片可能通过靶向自噬与炎症的交叉节点实现“双心同治”。本实验显示,丹萎片与自噬抑制剂 3-MA 均显著上调自噬底物 p62(反映自噬流抑制),同时下调自噬启动蛋白 Beclin-1 及 LC3-II 水平,提示其抑制自噬过度激活的能力。这种自噬调控与炎症抑制存在协同效应:丹萎片干预后,NLRP3 炎症体组分 Cleaved caspase-1 和下游炎症因子 IL-1 β 、IL-18 及 NF- κ B 关键亚基 p65 的核转位均被显著抑制。而 Toll 样受体-4(Toll-like receptor-4, TLR-4)作为重要的模式识别受体,在抑郁症免疫应答启动中发挥重要作用,TLR4 可通过激活下游信号分子 NF- κ B 而参与神经炎症反应。本研究发现,丹萎片可降低“双心”模型大鼠海马中 p-p65 及 TLR4 的蛋白水平,与蒋钰涵等^[21]研究一致,提示丹萎片抗抑郁的作用机制可能与调控 TLR4/NF- κ B 信号通路有关。有研究表明,NLRP3 与 NF- κ B 通路存在正反馈循环——caspase-1 切割 IL-1 β 前体释放活性 IL-1 β ,后者激活 NF- κ B,而活化的 NF- κ B 又可促进 NLRP3 表达^[22]。丹萎片通过同时阻断自噬异常激活和 NF- κ B/NLRP3 炎症轴,可能打破这一恶性循环。

综上所述,丹萎片对心肌缺血和抑郁样行为的双重改善,可能通过“炎症抑制-器官保护-神经功能恢复”的级联效应实现。从机制整合视角看:(1)IL-1 β 水平降低既可减轻心肌局部炎症

损伤,又能通过血脑屏障间接影响中枢神经递质代谢;(2)5-HT 和 DA 水平升高不仅改善抑郁行为,还可能通过激活心脏 β -肾上腺素受体调节心肌代谢,形成正向循环。此外,前期研究提示丹菱片成分(如丹参酮、葛根素)具有抗炎与神经保护双重活性,可能通过调控 NF- κ B/NLRP3 通路同时作用于外周炎症和中枢单胺系统。这一多靶点特性或是“双心同治”的分子基础,但具体成分-靶点-通路的映射关系仍需深入解析。

综上所述,丹菱片可通过抑制 NLRP3/NF κ B 炎症信号通路激活而发挥“双心同治”作用,其机制可能与抑制自噬水平相关,但仍有待于进一步探索。

参考文献:

- [1] ZHAO D, LIU J, WANG M, et al. Epidemiology of cardiovascular disease in China: current features and implications [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2020, 16(4) : 203 - 212.
- [2] FENG L, LI L, LIU W, et al. Prevalence of depression in myocardial infarction: a PRISMA-compliant meta-analysis [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(8) : e14596.
- [3] ZHANG Q, WANG L, WANG S, et al. Signaling pathways and targeted therapy for myocardial infarction [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1) : 78.
- [4] LIU J, JIN Y, WANG B, et al. Dopamine D1 receptor alleviates doxorubicin-induced cardiomyocyte injury by inhibiting NLRP3 inflammasome [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 561 : 7 - 13.
- [5] LEU S, TSANG Y L, HO L C, et al. NLRP3 inflammasome activation, metabolic danger signals, and protein binding partners [J]. *J Endocrinol*, 2023, 257(2) : e220184.
- [6] SEAN T H LEE. Inflammation, depression, and anxiety disorder: a population-based study examining the association between interleukin-6 and the experiencing of depressive and anxiety symptoms [J]. *Psychiatry Res*, 2020, 285 : 112809.
- [7] ALMEIDA I B, GOMES I A, SHANMUGAM S, et al. Inflammatory modulation of fluoxetine use in patients with depression: a systematic review and meta-analysis [J]. *Cytokine*, 2020, 131 : 155100.
- [8] BIASIZZO M, KOPITAR-JERALA N. Interplay Between NLRP3 inflammasome and autophagy [J]. *Front Immunol*, 2020, 11 : 591803.
- [9] CHONG X Y, XUE M Z. Research progress in clinical application of Danlou Tablets [J]. *Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine (辽宁中医杂志)*, 2023, 50(4) : 199 - 203.
- [10] YANG Q. Study on action mechanisms and material basis of "Psycho-Cardiological" effect of Xinkeshu Tablets (心可舒片 "双心"效应作用机制与物质基础研究) [D]. Jinan: Shandong University of Traditional Chinese Medicine (山东中医药大学), 2018.
- [11] KRITTANAWONG C, MAITRA N S, QADEER Y K, et al. Association of depression and cardiovascular disease [J]. *Am J Med*, 2023, 136(9) : 881 - 895.
- [12] GUO H D, DONG Y F, ZHONG F Y, et al. Research progress of traditional Chinese medicine affecting atherosclerosis [J]. *Journal of Shenyang Pharmaceutical University (沈阳药科大学学报)*, 2024, 41(6) : 775 - 788.
- [13] LYU S, YANG N, LU Y, et al. The therapeutic potential of traditional Chinese medicine in depression: focused on the modulation of neuroplasticity [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 26 : 15 : 1426769.
- [14] YI H D, XUE P Z, YUAN H H, et al. Research progress in the regulation of traditional Chinese medicine on neurotransmitter in psycho-cardiological disease [J]. *Shanxi Journal of Traditional Chinese Medicine (陕西中医)*, 2024, 45(8) : 1139 - 1142.
- [15] KANG Y Q, GAO M Y. Research progress on the mechanism of tanshinone IIA in treating coronary heart disease [J]. *Journal of Shenyang Pharmaceutical University (沈阳药科大学学报)*, 2023, 40(11) : 1558 - 1563.
- [16] YAN Y, YU J W, BAI S Y. Clinical observation of Danlou tablet in the treatment of stable angina pectoris [J]. *Clinical Journal of Medical Officers (临床军医杂志)*, 2019, 47(10) : 1067 - 1069.
- [17] YANG Y, LI X, CHEN S, et al. Mechanism and therapeutic strategies of depression after myocardial infarction [J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2021, 238(6) : 1401 - 1415.
- [18] LIU J, LIU L, HAN Y S, et al. The molecular mechanism underlying mitophagy-mediated hippocampal neuron apoptosis in diabetes-related depression [J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(15) : 7342 - 7353.
- [19] ALCOGER-GÓMEZ E, CASAS-BARQUERO N, WILLIAMS M R, et al. Antidepressants induced autophagy dependent-NLRP3-inflammasome inhibition in major depressive disorder [J]. *Pharmacol Res*, 2017, 121 : 141 - 121.
- [20] WU J, HAN Y, XU H, et al. Deficient chaperone-mediated autophagy facilitates LPS-induced microglial activation via regulation of the p300/NF- κ B/NLRP3 pathway [J]. *Sci Adv*, 2023, 9(40) : eadi8343.
- [21] JIANG Y H, WANG R, YU Q M. Mechanism of Yangxin decoction on depression model rats based on TLR4/NLRP3 signaling pathway [J]. *Shanxi Journal of Traditional Chinese Medicine (陕西中医)*, 2025, 46(3) : 306 - 310.
- [22] LUO M, YAN D, SUN Q, et al. Ginsenoside Rg1 attenuates cardiomyocyte apoptosis and inflammation via the TLR4/NF- κ B/NLRP3 pathway [J]. *J Cell Biochem*, 2020, 121(4) : 2994 - 3004.

Exploration of the "dual heart" effect mechanism of Danlou tablets based on mitochondrial autophagy NLRP3 inflammasome pathway

GAO Tingting, FAN Jing, YIN Shimeng, YANG Baisong*

(Department of Cardiovascular Medicine, The Air Force Hospital of Northern Theater PLA, Shenyang 110042, China)

Abstract: **Objective** To explore the mechanism by which Danlou tablets improve the comorbidity of cardiovascular disease and depression ("dual heart" disease) by regulating the mitochondrial autophagy NLRP3 inflammasome pathway. **Methods** Rat model of chronic myocardial ischemia combined with chronic unpredictable mild stress (CUMS) was constructed and randomly divided into blank control group, model group, Danlou tablets group ($0.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), and 3-MA group (autophagy inhibitor, $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). Depression like behavior was evaluated through sugar water preference experiments and forced swimming tests. ELISA was used to detect serum myocardial injury markers (CK, CK-MB, LDH, cTnI), neurotransmitters (5-HT, DA), and inflammatory factors (IL- 1β) levels. Western blot was used to analyze the expression of autophagy related proteins (LC3-II/I, Beclin-1, p62) and NLRP3 inflammasome pathway (NLRP3, cleaved-caspase-1, IL- 1β , IL-18) in hippocampal tissue. **Results** Danlou tablets intervention significantly ameliorated anhedonia in the model rats (61.2% increase in sucrose preference rate) and behavioral despair (53.5% decrease in Forced swimming without moving time), reduced myocardial injury markers (38.6% decrease in CK-MB and 33.8% decrease in cTnI), while downregulating serum IL- 1β levels (25.5% decrease) increasing 5-HT (107.8%) and DA (75.7%) levels. Research has shown that Danlou tablets inhibit excessive autophagy activation, reduce the LC3-II/I ratio, and lowered the expression levels of NLRP3 inflammasome pathway NLRP3 and downstream cleaved caspase-1, IL- 1β , and IL-18, block TLR4/NF- κ B signaling transduction, and reduced p65 nuclear translocation. **Conclusion** Danlou tablets can attenuate myocardial ischemic injury and depression like behavior by regulating the mitochondrial autophagy NLRP3/NF- κ B inflammatory axis. Its "dual heart" protective effect may be related to the interaction between inhibition of neuroinflammation and monoamine neurotransmitter imbalance, providing a theoretical basis for multi-target treatment of psychosomatic comorbidities with traditional Chinese medicine.

Key words: Danlou tablets; chronic myocardial ischemia; chronic mild unpredictable stress; NOD like receptor thermal protein domain associated protein 3; mitochondrial autophagy