

· 药效与毒理学研究 ·

基于 AKT/GSK3- β /SNAIL 通路探讨黄芪甲苷对心力衰竭心肌纤维化小鼠的保护作用

魏澜¹, 王陵军¹, 何嘉琪¹, 张璐¹, 王俊岩¹, 方红城², 汪朝晖¹ (1. 广州中医药大学第一附属医院, 广州中医药大学岭南医学研究中心, 广东 广州 510405; 2. 深圳市中西医结合医院, 广东 深圳 518000)

摘要: **目的** 基于 AKT/GSK3- β /SNAIL 通路探讨黄芪甲苷对心力衰竭(Heart Failure, HF)心肌纤维化小鼠的保护作用。**方法** 将 40 只雄性 C57BL/6J 小鼠随机分为假手术组、模型组、黄芪甲苷组(80 mg·kg⁻¹)、曲西瑞宾组(1 mg·kg⁻¹, AKT 抑制剂)及黄芪甲苷(80 mg·kg⁻¹)+SC79(5 mg·kg⁻¹, AKT 激动剂)组, 每组 8 只。采用主动脉弓缩窄术复制心力衰竭小鼠模型。模型复制前, 曲西瑞宾组给予腹腔注射给药, 每日 1 次, 连续 1 周; 模型复制成功后, 黄芪甲苷组给予灌胃给药, 每日 1 次, 连续 4 周; 黄芪甲苷+SC79 组采用腹腔注射联合灌胃给药, 模型复制前腹腔注射 SC79(5 mg·kg⁻¹)每日 1 次, 连续 1 周, 模型复制成功后以黄芪甲苷(80 mg·kg⁻¹)灌胃, 每日 1 次, 连续 4 周。采用心脏彩超检测小鼠心功能, 采集左心室射血分数(LVEF)和左室短轴缩短率(LVFS); 采用 Masson 染色法检测小鼠心肌组织纤维化情况; 采用天狼星红染色法检测小鼠血管及间质内胶原纤维沉积情况; 采用 Western Blot 法检测小鼠心脏组织 CD31、 α -SMA、AKT、GSK3- β 、pGSK3- β 、SNAIL 蛋白表达情况。**结果** 与假手术组比较, 模型组小鼠的 LVEF、LVFS 水平显著降低($P < 0.01$), 心肌纤维化面积显著增加($P < 0.01$), 血管周围及间质的胶原纤维沉积显著增加($P < 0.01$), CD31 蛋白表达水平明显下降($P < 0.05$), α -SMA、AKT、GSK3- β 、pGSK3- β 、SNAIL 蛋白表达水平明显升高($P < 0.05$)。与模型组比较, 黄芪甲苷组和曲西瑞宾组的上述各项检测指标均得到明显逆转($P < 0.05$, $P < 0.01$), 黄芪甲苷+SC79 组的指标变化均不明显($P > 0.05$)。**结论** 黄芪甲苷可能通过 AKT/GSK3- β /SNAIL 通路抑制内皮间质转化, 从而抑制心肌纤维化, 改善心力衰竭。

关键词: 黄芪甲苷; AKT/GSK3- β /SNAIL 信号通路; 心力衰竭; 小鼠; 内皮间质转化; 心肌纤维化

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)09-1231-07

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.09.001

Effect of Astragaloside IV Preventing and Treating Myocardial Fibrosis in Mice with Heart Failure Based on AKT/GSK3- β /SNAIL Signaling Pathway

WEI Lan¹, WANG Lingjun¹, HE Jiaqi¹, ZHANG Lu¹, WANG Junyan¹, FANG Hongcheng², WANG Zhaoxue¹ (1. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Lingnan Medical Research Center of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China; 2. Shenzhen Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Shenzhen 518000 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To explore the mechanism of Astragaloside IV (AS-IV) inhibiting endothelial-to-mesenchymal transition mediated by AKT/GSK3- β /SNAIL and preventing myocardial fibrosis of heart failure. **Methods** Forty C57BL/6J male mice were randomly divided into Sham operation group, model group, AS-IV group(80 mg·kg⁻¹), tricinibine group(AKT inhibitor, 1 mg·kg⁻¹), AS-IV+SC79 group(AKT agonist, 5 mg·kg⁻¹). The HF model was reproduced by transverse aortic constriction (TAC). Mice in tricinibine group were intraperitoneally injected with

收稿日期: 2021-01-07

作者简介: 魏澜, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中医药防治心力衰竭。Email: 1148112371@qq.com。通信作者: 汪朝晖, 男, 副研究员, 博士, 研究方向: 中医药防治心血管疾病。Email: 971434900@qq.com。

基金项目: 国家自然科学基金项目(81673920, 81973776); 国家中医临床研究基地建设项目(国中医药科技函[2018]131 号)。

1 mg·kg⁻¹ triciniribine once a day for one week before modeling. AS-IV group mice were given 80 mg·kg⁻¹ AS-IV by gavage once a day for four weeks after modeling. Mice in AS-IV+SC79 group were given intraperitoneal injection with 5 mg·kg⁻¹ SC79 once a day for one week, then AS-IV was administrated 80 mg·kg⁻¹ once a day for four weeks. After four weeks continuous administration, the cardiac function of mice in each group was detected by ultrasound, the deposition of collagen fibers in the heart of mice in each group was detected by Masson staining and Sirius red staining, and the expression of AKT, GSK3-β, pGSK3-β, SNAIL, CD31, α-SMA proteins were detected by Western Blot. **Results** Comparing with the Sham operation group, in the model group, the LVEF and LVFS values were reduced significantly ($P < 0.01$), there were more collagen fibers deposition in heart tissue ($P < 0.01$), the level of CD31 protein was decreased ($P < 0.05$) while the levels of α-SMA, AKT, GSK3-β, pGSK3-β, SNAIL proteins were increased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the indexes of AS-IV group and triciniribine group were improved markedly ($P < 0.05$, $P < 0.01$). There were no significant change in the index and no different in AS-IV+SC79 group, compared with the model group ($P > 0.05$). **Conclusion** AS-IV may inhibit endothelial-to-mesenchymal transition mediated by AKT/GSK3-β/SNAIL signaling pathway and regulate myocardial fibrosis of HF.

Keywords: Astragaloside IV; AKT/GSK3-β/SNAIL signaling pathway; heart failure; mice; endothelial-to-mesenchymal transition; myocardial fibrosis

心力衰竭(Heart failure, HF)是多种心血管疾病的严重表现和终末期阶段,心力衰竭患者主要表现为呼吸困难、疲乏和液体潴留(肺淤血、体循环淤血及外周水肿)等^[1]。据流行病学调查^[2]显示,我国成人的心力衰竭患病率为 0.9%,随着老龄化时代的到来,心力衰竭的发病率将呈上升趋势。目前关于心力衰竭的发病机制尚不明确,一般认为心肌重塑是心力衰竭的重要机制之一,包括心肌细胞损失和心肌纤维化^[3-4]。成纤维细胞在心肌纤维化的形成过程中起到了重要作用,除了心脏固有的成纤维细胞外,还有部分成纤维细胞是通过内皮间质转化(Endothelial-to-mesenchymal transition, EndMT)演变而来^[5]。

黄芪甲苷(Astragaloside IV)是中药黄芪的提取物,具有舒张血管、保护血管内皮细胞、抗炎、抗病毒等多方面的药理作用,能够减少心肌细胞损伤和阻止内皮细胞功能障碍^[6-7]。近年来,研究发现黄芪甲苷对心脏具有保护作用,能够抑制心力衰竭大鼠心室重构^[8],减轻心肌缺血再灌注诱导的心肌损伤^[9],减轻心肌梗死后的纤维化沉积^[10]。然而,目前关于黄芪甲苷是否通过抑制 EndMT 改善心肌纤维化尚不清楚。因此,本研究拟观察黄芪甲苷对心力衰竭小鼠 EndMT 的影响,基于 AKT/GSK3-β/SNAIL 信号通路探讨黄芪甲苷防治心力衰竭的作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物 8~10 周龄雄性 C56BL/6J 小鼠, 40 只,

SPF 级, 体质量(24±2)g, 由广东省医学实验动物中心提供, 动物生产许可证号: SCXK(粤)2018-0002, 动物质量合格证号: 44007200078930, 实验单位使用许可证号: SYXK(粤)2018-0001。

1.2 药物及试剂 黄芪甲苷(Astragaloside IV, 纯度≥98%), 成都普思生物技术股份有限公司, 批号: PS010428; 曲西瑞宾水合物(Triciniribine hydrate, 纯度≥97%, AKT 抑制剂), 德国 Sigma-Aldrich 公司, 批号: T3830; SC79(纯度>97%, AKT 激动剂), 美国 Selleck 公司, 批号: S786302。蛋白快速提取试剂(货号: SD001), 英文特生物技术(北京)有限公司; BCA 蛋白浓度测定试剂盒(货号: P0010)、SDS-PAGE 凝胶配置试剂盒(货号: P0012A)、SDS-PAGE 电泳液(货号: P0014B), 均购于上海碧云天生物技术有限公司; ECL 发光液, 上海天能科技有限公司; 一抗 GSK3-β(货号: ab32391)、pGSK3-β(phosphor S9, 货号: ab75814)、CD31(货号: ab28364)、α-SMA(货号: ab5694), 均购于英国 Abcam 公司; 一抗 SNAIL(货号: #3879)、AKT(货号: #4691)以及二抗 Anti-rabbit IgG(HRP-linked antibody, 货号: 7074S), 均购于美国 CST 公司; GAPDH 抗体(货号: sc-47724), 美国 Santa Cruz 公司; Masson 染色试剂盒、天狼星红染色试剂盒, 北京索莱宝科技有限公司。

1.3 主要仪器 Inspira ASVv 动物容量控制呼吸机, 美国 Harvard 公司; Vevo2100 型高分辨率小动物超

声实时影像系统,加拿大 Visual Sonics 公司;高压电泳仪、电泳装置、电转装置、全自动凝胶成像系统,美国 Bio-Rad 公司;石蜡包埋机、组织切片机,德国 Lecia 公司;显微镜,日本 Nikon 公司;低温高速台式离心机,美国 Beckman 公司。

1.4 模型复制 采用胸主动脉弓缩窄术(Transverse aortic constriction, TAC)构建小鼠心力衰竭模型。小鼠称定质量,采用 0.5%戊巴比妥钠($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)腹腔注射麻醉。麻醉起效后,使用脱毛膏备皮,将小鼠仰卧位固定在小动物恒温手术台,行气管插管,并连接呼吸机,潮气量为 2~3 mL,呼吸频率为每分钟 120 次。碘酊消毒皮肤后,沿胸骨中线稍向左偏,剪开第一肋,分离胸腺,暴露主动脉弓;在主动脉弓下穿入 5-0 缝线,选择 25 G(直径 0.5 mm)钝性针头与主动脉弓平行放置并结扎,确认缝线牢固后轻抽出针。观察小鼠并逐层缝合,拔出气管插管,装笼常规饲养。假手术组采用开胸操作,但不进行主动脉弓缩窄术。术后 3 d 内给予青霉素肌肉注射($18\,000 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$)预防感染。模型复制后 4 周,通过心脏彩超检测小鼠心功能,左心室射血分数(LVEF)低于 50%提示心功能明显受损,符合慢性心力衰竭模型的评价标准。

1.5 分组及给药 40 只小鼠适应性饲养 1 周以后,随机分为 5 组:假手术组、模型组、黄芪甲苷组($80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、曲西瑞宾组($1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, AKT 抑制剂)、黄芪甲苷($80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)+SC79($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, AKT 激动剂)组。各治疗组按照人与小鼠体表面积换算等效给药剂量。模型复制前,曲西瑞宾组给予腹腔注射,每日 1 次,连续 1 周。模型复制成功后,黄芪甲苷组给予相应剂量灌胃给药($8 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$),每日 1 次,连续 4 周。黄芪甲苷+SC79 组采用腹腔注射联合灌胃给药,模型复制前腹腔注射 SC79($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)每日 1 次,连续 1 周;模型复制后以黄芪甲苷($80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)灌胃给药,每日 1 次,连续 4 周。假手术组和模型组给予等量生理盐水灌胃。

1.6 心脏彩超检测小鼠心功能 给药 4 周后进行小鼠心功能检测,采用异氟烷气体麻醉小鼠后,胸部备皮,仰卧位固定于小动物恒温工作台,采用小动物超声仪进行超声心动图检测,检测指标如下:左心室射血分数(Left Ventricular ejection fraction, LVEF)、左室短轴缩短率(Left ventricular fractional shortening, LVFS)。

1.7 Masson 染色法检测心肌组织纤维化情况 取小

鼠完整心脏组织样本,用 4%多聚甲醛固定,常规脱水、石蜡包埋、制片、Masson 染色;在显微镜下观察 Masson 染色切片并采集结果,使用 ImageJ 软件计算分析心肌组织纤维化面积。

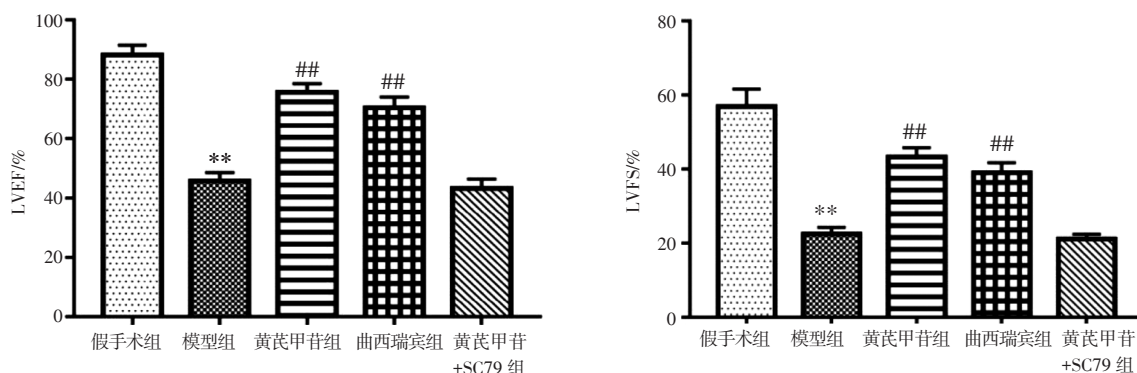
1.8 天狼星红染色法检测心肌组织胶原沉积情况 取小鼠完整心脏组织,常规脱水、石蜡包埋、制片、脱蜡、水化;以 Weigert 铁苏木素染色液染色 10~20 min,用自来水洗 5~10 min,蒸馏水洗 1 次;以天狼星红染色液滴染 1 h,流水冲洗,去除切片表面染液,脱水封片。在显微镜下观察天狼星红染色切片并采集结果,使用 ImageJ 软件计算分析心肌胶原沉积面积。

1.9 Western Blot 法检测小鼠心肌组织相关蛋白的表达 取 20 mg 小鼠左心室组织,加入 400 μL 蛋白裂解液,匀浆裂解后,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 下 $16\,000 \times g$ 离心 5 min,收集上清。取少量蛋白原液,采用 BCA 法测定蛋白浓度,制备蛋白样品。经上样、电泳后,将蛋白转至 PVDF 膜;用 5%脱脂牛奶(0.5%TBST 配制)室温下封闭 1 h, TBST 洗涤 1 遍;加入一抗[CD31(1:1 000)、 α -SMA(1:1 000)、AKT(1:1 000)、GSK3- β (1:1 000)、pGSK3- β (1:1 000)、SNAIL(1:1 000)、GAPDH(1:5 000)兔单克隆抗体],4 $^{\circ}\text{C}$ 摇床上孵育过夜;次日, TBST 洗涤后(每次 10 min,共 3 次),加入二抗,室温下孵育 1 h。按试剂说明书混合发光液 A 和 B,与膜作用 3 min 后,采用 Bio-Rad 凝胶成像系统成像。采用 ImageJ 软件进行条带分析,以 GAPDH 为内参,对目的蛋白表达水平进行半定量分析。

1.10 统计学处理方法 采用 SPSS 22.0 统计软件进行数据分析;计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示;多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),两两比较采用 LSD 检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 黄芪甲苷对心力衰竭小鼠心功能的影响 结果见图 1。与假手术组比较,模型组小鼠的 LVEF 和 LVFS 水平均显著降低($P < 0.01$),提示小鼠左心室收缩功能降低,心力衰竭模型复制成功。与模型组比较,黄芪甲苷组和曲西瑞宾组的 LVEF 和 LVFS 水平均显著升高($P < 0.01$),黄芪甲苷+SC79 组的 LVEF 和 LVFS 水平无明显变化($P > 0.05$)。结果表明,黄芪甲苷和曲西瑞宾均能有效改善心力衰竭小鼠的心功能。



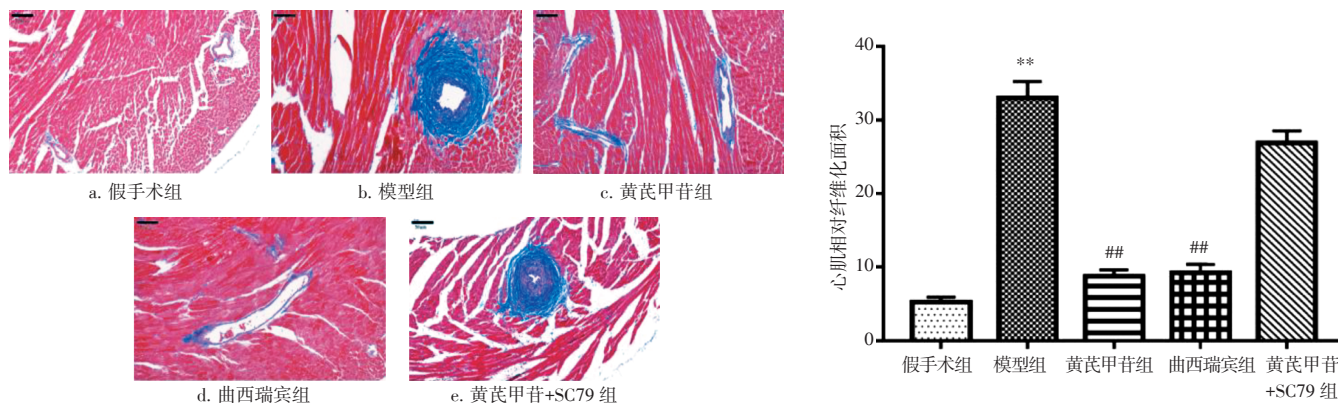
注：与假手术组比较，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，## $P < 0.01$

图1 黄芪甲苷对心力衰竭小鼠心功能的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Figure 1 Effects of AS-IV on cardiac function in heart failure mice($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

2.2 黄芪甲苷对心力衰竭小鼠心肌组织纤维化的影响 结果见图2。高倍镜下观察 Masson 染色切片，红色区域为正常心肌组织，蓝色区域为心肌纤维化病变区。与假手术组比较，模型组小鼠心肌蓝色纤维组织明显增多，心肌相对纤维化面积显著增加($P < 0.01$)；与模型组比较，黄芪甲苷组和曲西瑞

宾组小鼠的心肌相对纤维化面积显著减少($P < 0.01$)，黄芪甲苷+SC79组小鼠心肌蓝色纤维化面积无明显变化，差异无统计学意义($P > 0.05$)。结果表明，黄芪甲苷和曲西瑞宾均能有效改善心力衰竭小鼠的心肌纤维化。



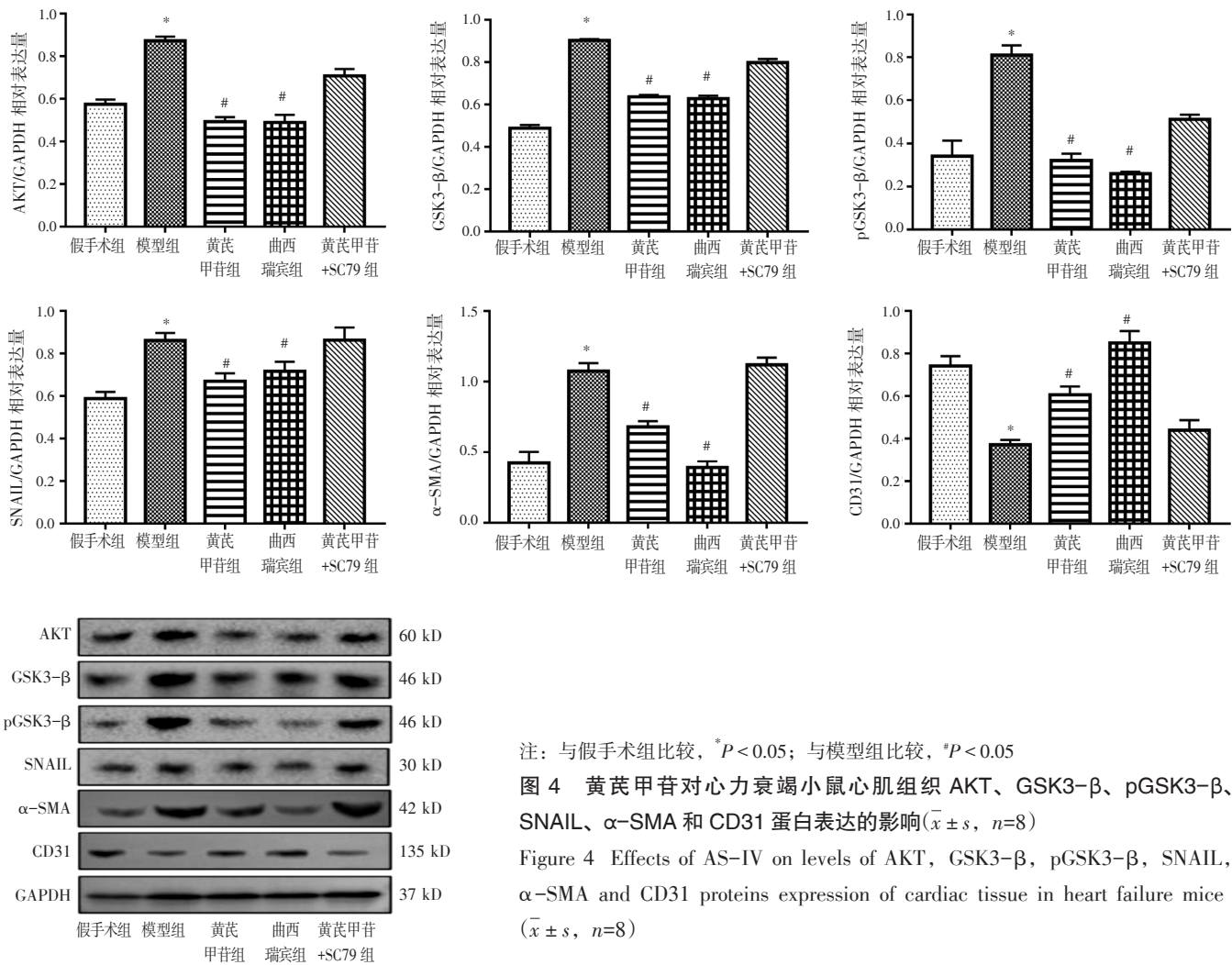
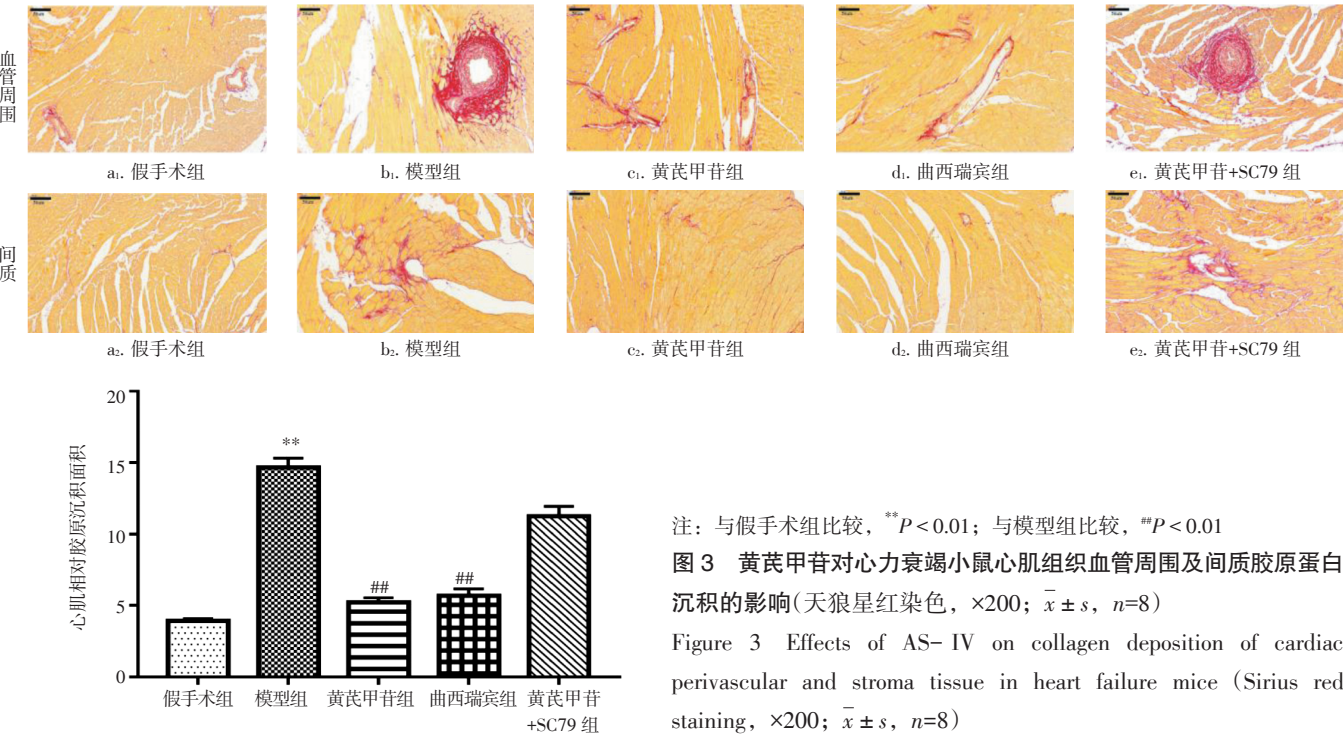
注：与假手术组比较，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，## $P < 0.01$

图2 黄芪甲苷对心力衰竭小鼠心肌纤维化的影响(Masson 染色, $\times 200$; $\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Figure 2 Effects of AS-IV on myocardial fibrosis in heart failure mice(Masson staining, $\times 200$; $\bar{x} \pm s$, $n=8$)

2.3 黄芪甲苷对心力衰竭小鼠心肌组织血管周围及间质内胶原蛋白沉积的影响 结果见图3。天狼星红染色后在高倍镜下观察，黄色区域为正常心肌组织，红色区域为胶原蛋白沉积区域。与假手术组比较，模型组小鼠心肌组织红色胶原沉积面积显著增加($P < 0.01$)，间质内胶原纤维增多、变粗。与模型组比较，黄芪甲苷组和曲西瑞宾组小鼠心肌胶原沉积面积显著减少($P < 0.01$)，间质内胶原纤维减少、变细；黄芪甲苷+SC79组小鼠血管周围红色胶原沉积面积无明显变化($P > 0.05$)。结果表明，黄芪甲苷和曲西瑞宾能有效改善心力衰竭小鼠的心肌纤维化。

2.4 黄芪甲苷对心力衰竭小鼠心肌组织相关蛋白表达的影响 结果见图4。与假手术组比较，模型组小鼠心肌组织中 AKT、GSK3- β 、pGSK3- β 、SNAIL、 α -SMA 蛋白表达明显上调($P < 0.05$)，CD31 蛋白表达明显下调($P < 0.05$)，提示心力衰竭小鼠心肌纤维化明显增强。与模型组比较，黄芪甲苷组和曲西瑞宾组小鼠心肌组织 CD31 蛋白表达明显上调($P < 0.05$)，AKT、GSK3- β 、pGSK3- β 、SNAIL、 α -SMA 蛋白表达明显下调($P < 0.05$)；黄芪甲苷+SC79组小鼠心肌组织相关蛋白表达均无明显变化($P > 0.05$)。结果表明，黄芪甲苷可能通过 AKT/GSK3- β /SNAIL 信号通路减轻心力衰竭小鼠的心肌纤维化。



3 讨论

心力衰竭是多种原因导致心脏结构和(或)功能的异常改变,使心室收缩和(或)舒张功能发生障碍,而引起的一组复杂的临床综合征^[11]。心肌纤维化是细胞外基质产生和降解失衡,由活动的成纤维细胞充当主要效应细胞,在心脏生理病理状态下导致收缩和舒张功能障碍。实验和临床证据^[12]均证明,心肌纤维化改变是可逆的。

内皮细胞向间充质细胞转化(EndMT)是上皮细胞向间充质细胞转化(EMT)的一种特殊形式。在EndMT过程中,内皮细胞在纤维化病理状态下,可以改变其形态和功能特征,获得成纤维细胞、肌成纤维细胞和平滑肌细胞的特征,这种改变可以增加其纤维化特征^[13],表现为间充质标记物 α -SMA上调,波形蛋白磷酸化,内皮细胞标记物CD31减少及细胞间接触减少^[14]。

EndMT与EMT在形成过程中有许多相似之处,主要通过几种常见的信号传导途径被过度激活,包括PI3K/AKT通路^[15]、SNAIL/TGF- β 通路及MAPK通路等^[16-17]。在胚胎发育时期以及肿瘤进展过程中,SNAIL是一种强有力的EMT诱导剂^[18],能够通过PI3K/AKT/GSK3- β /SNAIL信号通路调节SNAIL的表达,从而调节EMT^[19]。近些年研究^[20-21]发现,通过不同途径之间的窜扰和合作可以增强EMT,如诱导AKT激活可以通过NF- κ B诱导SNAIL表达,或磷酸化GSK3- β 增强SNAIL的活性,最终导致心肌纤维化。AKT/GSK3- β /SNAIL通路可能是EMT形成的重要因素^[22-23],同样也是介导EndMT引起心肌纤维化的重要通路^[24]。

中医学认为,心力衰竭属于“心悸”“胸痹”“痰饮”“血瘀”等范畴,主要病机为本虚标实,多采用益气温阳或益气养阴兼活血利水的治法。黄芪具有补气温阳功效,黄芪甲苷是其主要活性成分之一,具有抗炎、免疫调节、抗氧化、抗纤维化等多种生物活性^[25],可以抑制炎症反应,干预心肌纤维化的发生发展^[26],能够从多方面抑制心力衰竭心肌纤维化的发生。研究发现,通过纠正能量代谢可以抑制心力衰竭大鼠心肌纤维化^[27];抑制TGF- β 1的过表达可以抑制心肌纤维化^[28];黄芪甲苷可以通过PI3K/AKT/GSK3- β 信号通路减轻心肌缺血再灌注损伤的影响^[29];含有黄芪成分的芪参颗粒可以抑制成纤维细胞中GSK3- β 磷酸化来减轻心肌纤维化^[30]。因此,本研究基于AKT/GSK3- β /SNAIL信号通路探讨了黄芪甲

苷防治心力衰竭的作用机制。

本研究发现,与模型组比较,黄芪甲苷组心力衰竭小鼠的LVEF和LVFS水平明显升高,心肌组织纤维化面积减少,血管周围和间质内的胶原纤维沉积减少,内皮细胞标记物CD31蛋白表达上调,间充质标记物 α -SMA蛋白表达下调。说明黄芪甲苷能够有效改善心力衰竭小鼠心功能,减轻其心肌纤维化程度,抑制其心肌血管周围和间质内的胶原纤维沉积,证明黄芪甲苷能有效治疗心力衰竭心肌纤维化。本研究进一步探讨了黄芪甲苷是否通过AKT信号通路对防治心力衰竭小鼠心肌纤维化发挥作用。本研究发现,与模型组比较,黄芪甲苷+SC79(AKT激动剂)组心力衰竭小鼠的LVEF、LVFS、心肌组织纤维化面积、胶原沉积面积以及AKT、pGSK3- β 、SNAIL、 α -SMA、CD31蛋白表达均无明显变化($P>0.05$)。而黄芪甲苷组的AKT、pGSK3- β 、SNAIL蛋白表达均明显下调,表明黄芪甲苷能够抑制AKT蛋白表达,从而抑制GSK3- β 的磷酸化,以减少SNAIL的活性,从而抑制EndMT,减轻心肌纤维化。综上所述,黄芪甲苷可以通过AKT/GSK3- β /SNAIL信号通路防治心肌纤维化,从而减轻心力衰竭。

参考文献:

- [1] 王华,梁延春.中国心力衰竭诊断和治疗指南2018[J].中华心血管病杂志,2018,46(10):760-789.
- [2] 金雪娟,周京敏,葛均波.心力衰竭流行病学研究进展[J].中国临床医学,2013,20(6):852-855.
- [3] HEUSCH G, LIBBY P, GERSH B, et al. Cardiovascular remodeling in coronary artery disease and heart failure[J]. Lancet, 2014, 383(9932):1933-1943.
- [4] WEBER K T, SUN Y, BHATTACHARYA S K, et al. Myofibroblast-mediated mechanisms of pathological remodelling of the heart[J]. Nat Rev Cardiol, 2013, 10(1):15-26.
- [5] ZEISBERG E M, TARNAVSKI O, ZEISBERG M, et al. Endothelial-to-mesenchymal transition contributes to cardiac fibrosis[J]. Nat Med, 2007, 13(8):952-961.
- [6] 朱燕辉,严奉祥.黄芪甲苷及其生物学活性[J].现代生物医学进展,2008,8(4):781-783,774.
- [7] 曹玉冰.黄芪甲苷的药理作用及其机制的研究进展[J].现代药物与临床,2017,32(5):954-960.
- [8] TANG B, ZHANG J G, TAN H Y, et al. Astragaloside IV inhibits ventricular remodeling and improves fatty acid utilization in rats with chronic heart failure[J]. Biosci Rep, 2018, 38(3):e20171036.
- [9] YIN B, HOU X W, LU M L. Astragaloside IV attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury in rats via inhibition of calcium-sensing receptor-mediated apoptotic signaling pathways[J]. Acta Pharmacol

- Sin, 2019, 40(5): 599–607.
- [10] CHENG S, ZHANG X, FENG Q, et al. Astragaloside IV exerts angiogenesis and cardioprotection after myocardial infarction *via* regulating PTEN/PI3K/Akt signaling pathway[J]. Life Sci, 2019, 227: 82–93.
- [11] 国家卫生计生委合理用药专家委员会, 中国药师协会. 心力衰竭合理用药指南(第2版)[J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2019, 11(7): 1–78.
- [12] KONG P, CHRISTIA P, FRANGOGIANNIS N G. The pathogenesis of cardiac fibrosis[J]. Cell Mol Life Sci, 2014, 71(4): 549–574.
- [13] DEJANA E, LAMPUGNANI M G. Endothelial cell transitions[J]. Science, 2018, 362(6416): 746–747.
- [14] GOOD R B, GILBANE A J, TRINDER, S L, et al. Endothelial to mesenchymal transition contributes to endothelial dysfunction in pulmonary arterial hypertension[J]. Am J Pathol, 2015, 185(7): 1850–1858.
- [15] HONG L, DU X, LI W, et al. EndMT: a promising and controversial field[J]. Eur J Cell Biol, 2018, 97(7): 493–500.
- [16] SABBINENI H, VERMA A, SOMANATH P R. Isoform-specific effects of transforming growth factor beta on endothelial-to-mesenchymal transition[J]. J Cell Physiol, 2018, 233(11): 8418–8428.
- [17] LEE S Y, JEONG E K, JU M K, et al. Induction of metastasis, cancer stem cell phenotype, and oncogenic metabolism in cancer cells by ionizing radiation[J]. Mol Cancer, 2017, 16(1): 10–18.
- [18] THIERY J P, ACLOQUE H, HUANG R Y, et al. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease[J]. Cell, 2009, 139(5): 871–890.
- [19] JIANG H, ZHOU Z, JIN S, et al. PRMT9 promotes hepatocellular carcinoma invasion and metastasis *via* activating PI3K/Akt/GSK-3beta/Snail signaling[J]. Cancer Sci, 2018, 109(5): 1414–1427.
- [20] LAMOUILLE S, XU J, DERYNCK R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2014, 15(3): 178–196.
- [21] LAL H, AHMAD F, ZHOU J, et al. Cardiac fibroblast glycogen synthase kinase-3beta regulates ventricular remodeling and dysfunction in ischemic heart[J]. Circulation, 2014, 130(5): 419–430.
- [22] ZHOU S L, ZHOU Z J, HU Z Q, et al. CXCR2/CXCL5 axis contributes to epithelial-mesenchymal transition of HCC cells through activating PI3K/Akt/GSK-3beta/Snail signaling[J]. Cancer Lett, 2015, 358(2): 124–135.
- [23] YUAN L, ZHOU M, HUANG D, et al. Resveratrol inhibits the invasion and metastasis of colon cancer through reversal of epithelial mesenchymal transition *via* the AKT/GSK3beta/Snail signaling pathway[J]. Mol Med Rep, 2019, 20(3): 2783–2795.
- [24] ZHANG Y, WU X, LI Y, et al. Endothelial to mesenchymal transition contributes to arsenic-trioxide-induced cardiac fibrosis[J]. Sci Rep, 2016, 2016(6): e33787.
- [25] 蒋微, 蒋式骊, 刘平. 黄芪甲苷的药理作用研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(9): 2121–2124.
- [26] 黄牧华, 周华. 中医药干预心肌纤维化机制研究进展[J]. 上海中医药大学学报, 2016, 30(1): 81–86.
- [27] 唐斌, 张金国, 谭洪勇, 等. 黄芪甲苷对慢性心衰大鼠心肌纤维化及能量代谢的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2017, 33(3): 411–416.
- [28] 蒋洪强, 张金国. 黄芪甲苷抑制慢性心力衰竭大鼠心肌纤维化和转化生长因子 β 1的表达[J]. 新医学, 2016, 47(1): 27–33.
- [29] WEI D, XU H, GAI X, et al. Astragaloside IV alleviates myocardial ischemia-reperfusion injury in rats through regulating PI3K/AKT/GSK-3beta signaling pathways[J]. Acta Cir Bras, 2019, 34(7): e201900708.
- [30] ZENG Z, WANG Q, YANG X, et al. Qishen granule attenuates cardiac fibrosis by regulating TGF- β /Smad3 and GSK-3beta pathway [J]. Phytomedicine, 2019, 2019(62): e152949.

(编辑: 邹元平)