

# 雪莲注射液调控巨噬细胞极化改善心肌缺血再灌注损伤的实验研究

沈祥礼<sup>1</sup> 张亚豪<sup>2</sup> 菲尔凯提·玉山江<sup>1</sup> 张保健<sup>1</sup> 姜述斌<sup>1</sup> (通讯作者)

1.新疆维吾尔自治区中医医院 新疆 乌鲁木齐 830000

2.新疆医科大学第四临床医学院 新疆 乌鲁木齐 830000

**【摘要】**目的：探讨雪莲注射液调控巨噬细胞极化改善心肌缺血再灌注损伤的作用。方法：50只健康雄性C57BL/6小鼠随机分为假手术组、模型组、雪莲注射液低、中、高剂量组。假手术组开胸、穿线但不结扎冠状动脉，模型组和雪莲注射液低、中、高剂量组通过结扎冠状动脉构建MIRI模型。雪莲注射液低、中、高剂量组注射相应浓度的雪莲注射液，假手术组和模型组注射等体积0.9%氯化钠注射液。连续干预7d后，流式细胞术(FCM)测定M1、M2型巨噬细胞占比，酶联免疫吸附(ELISA)法检测血清TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-10、TGF- $\beta$ 水平。结果：与假手术组相比，模型组小鼠的M1型巨噬细胞比例及M1/M2比值显著升高( $P<0.01$ )，而M2型巨噬细胞比例显著降低( $P<0.01$ )；同时，血清促炎因子IL-6、TNF- $\alpha$ 水平显著升高( $P<0.01$ )，抗炎因子IL-10、TGF- $\beta$ 水平显著降低( $P<0.01$ )。与模型组相比，雪莲注射液各剂量组可显著逆转上述变化，表现为M1型巨噬细胞比例及M1/M2比值降低( $P<0.01$ )，M2型巨噬细胞比例升高( $P<0.01$ )；同时，IL-6与TNF- $\alpha$ 水平显著下降( $P<0.01$ )，而IL-10与TGF- $\beta$ 水平显著升高( $P<0.01$ )。结论：心肌缺血再灌注损伤小鼠可促进巨噬细胞向M1型极化，并增加炎症反应，雪莲注射液可使巨噬细胞向M2型极化，进而缓解炎症反应。

**【关键词】**雪莲注射液；心肌缺血再灌注损伤；巨噬细胞极化

DOI:10.12417/2705-098X.26.07.061

心血管疾病发病率、死亡率及致残率均较高，严重危害人类健康，是全球关注的重大公共卫生问题<sup>[1-2]</sup>。急性心肌梗死(AMI)是指冠状动脉病变导致血供急剧减少或中断，引起相应区域心肌因持久严重缺血而发生坏死的疾病，临床以剧烈胸痛、急性循环功能障碍为主要表现，甚至危及生命。目前，通过抗栓治疗或直接经皮冠状动脉介入治疗实现心肌再灌注，是减轻缺血损伤、限制梗死范围最有效的方法<sup>[3]</sup>。然而，心肌再灌注过程本身就会加剧心肌组织损伤，这一现象称为心肌缺血再灌注损伤(MIRI)<sup>[4]</sup>。

MIRI的发病机制复杂，包括炎症、氧化应激、钙离子超载、能量代谢障碍、线粒体功能障碍和自噬失调等，其中炎症在MIR的生理病理中起到重要作用<sup>[5]</sup>。巨噬细胞的极化状态在心肌组织炎症进程中发挥双向调节功能。M1型巨噬细胞属于促炎亚群，能够分泌多种促炎细胞因子，从而驱动炎症反应的发展；相反，M2型巨噬细胞主要通过释放抗炎介质，参与炎症消退及受损组织的修复过程<sup>[6-7]</sup>。在特定微环境条件下，心肌细胞可对巨噬细胞的极化方向进行调控，使其偏向M2型，以维持炎症反应的平衡。研究指出，在常氧环境中，心肌细胞来源的外泌体更易促使巨噬细胞向M1型极化；而在缺氧条件下，此类外泌体内转化生长因子 $\beta$ 的表达量上升，进而推动巨噬细

胞向M2型极化，后者能够通过抑制缺氧诱导的心肌细胞凋亡来发挥心脏保护效应。类似地，从急性心肌梗死患者血液中提取的外泌体也显示出促进M2型极化的能力<sup>[8-9]</sup>。然而，在心肌缺血再灌注损伤过程中，坏死心肌细胞释放的损伤相关分子模式会诱导巨噬细胞向M1型极化，增强其吞噬功能并加速促炎细胞因子的分泌。因此在MIRI期间，阻断巨噬细胞向M1型极化成为改善心肌细胞炎症损伤的重要治疗靶点。

天山雪莲是新疆道地药材，其提取物雪莲注射液为单味中药制剂，主要活性成分为雪莲黄酮类化合物。研究表明，该成分具有缓解心肌缺血、调节心肌能量代谢、增强机体抗氧化能力的作用，可有效改善心肌损伤情况，对心脏结构与功能具有保护效应<sup>[10]</sup>。但雪莲注射液对心肌缺血再灌注损伤小鼠巨噬细胞极化的调控作用，目前尚不明确。据此，本研究探讨雪莲注射液改善心肌缺血再灌注损伤小鼠的潜在机制，以期丰富天山雪莲治疗MIRI的现代科学内涵。

## 1 材料与仪器

### 1.1 主要仪器

本研究采用的主要实验设备包括：用于动物麻醉的EZVET F500 Series型小动物麻醉机(北京易购佳科技有限公司)；用

作者简介：沈祥礼，男，汉族，新疆乌鲁木齐市人，新疆维吾尔自治区中医医院，副高，研究方向为：心脏起搏与心电生理。

通讯作者：姜述斌，男，汉族，新疆乌鲁木齐市人，新疆维吾尔自治区中医医院，正高，研究方向为：心脏起搏与心电生理。

基金项目：

1.新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2023D01C138)。

2.新疆维吾尔自治区区域协同创新专项(上海合作组织科技伙伴计划及国际科技合作计划)(2023E01021)。

于组织切片的 Leica RM2235 型轮转式切片机（德国徕卡仪器有限公司）；恒温反应使用的 HWS-24 型电热恒温水浴槽（上海一恒科学仪器有限公司）；样品低温离心所用的 Sigma 3-30KS 型低温离心机（德国 Sigma 公司）；蛋白质电泳相关的 Bio-Rad SDS-PAGE 电泳系统及 Bio-Rad 680 型全波长酶标仪（美国 Bio-Rad 公司）；凝胶成像所用的 GelDoc-It 310 型凝胶成像系统（美国 UVP 公司）；化学发光检测的 ChemiScope 6100 型化学发光成像系统（上海勤翔科学仪器有限公司）；以及细胞表型分析使用的 BeamCyte-1026 型流式细胞仪（常州必达生物科技有限公司）。

## 1.2 主要药品和试剂

实验所用药品及试剂主要包括：国药集团新疆制药有限公司提供的雪莲注射液（批准文号：国药准字 65020112）。用于流式细胞术检测的抗体均购自美国 BioLegend 公司，包括 PE/Cyanine7 标记的抗小鼠 CD68 抗体、PE 标记的抗小鼠 CD86 抗体以及 APC 标记的抗小鼠 CD206 (MMR) 抗体。血清炎症因子检测采用 ELISA 法，相关试剂盒（包括 IL-6、TNF- $\alpha$ 、IL-10 及 TGF- $\beta$ ）均由武汉云克隆科技股份有限公司提供。

## 1.3 试验动物

本研究使用的实验动物为 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠，周龄 6-8 周，体重 20-22 g，购自斯贝福（北京）生物技术有限公司（动物生产许可证号：SCXK（京）2019-0010；质量合格证号：110324241100285125）。所有小鼠饲养于 SPF 级动物房内，环境温度控制在 22-24°C，相对湿度维持在 50% - 60%，并采用 12 h 光照/12 h 黑暗的交替照明模式。动物在实验前先进行为期 1 周的适应性饲养，自由摄取标准饲料和纯净水。正式实验开始前，小鼠禁食 12 h 并限制饮水。本实验所有操作程序均经动物实验伦理委员会审批通过（批准号：MDL2022122501），并严格执行相关动物伦理与管理规范。

# 2 方法

## 2.1 分组、造模与给药

本研究采用 SPF 级健康雄性 C57BL/6J 小鼠，将其随机分为假手术组、模型组、XLI 低剂量（XLI-L）组、XLI 中剂量（XLI-M）组及 XLI 高剂量（XLI-H）组，每组 10 只，共 50 只。除假手术组仅行开胸穿线而不结扎冠状动脉外，其余各组均通过冠状动脉结扎术构建心肌缺血再灌注损伤 (MIRI) 模型。XLI-L、XLI-M、XLI-H 组分别腹腔注射 2.06、4.11、8.22 mg/kg 的 XLI（以 0.9% 氯化钠注射液稀释至 0.5 mL），假手术组与模型组则给予等体积的 0.9% 氯化钠注射液。所有干预均为每日 1 次，连续 7 天。实验期间密切观察并记录各组小鼠的进食、饮水、活动、毛色、体重、精神状态及粪便性状等一般情况的变化。

## 2.2 流式细胞术检测 M1/M2 型巨噬细胞比例

取小鼠心肌组织剪碎后置于含混合消化酶的离心管中，于 37°C 条件下振荡消化 1 h。消化完成后经筛网过滤获得单细胞悬液，在 4°C 下以 1500 r/min 离心 5 分钟，弃上清后用 PBS 重悬细胞并重复离心。随后加入红细胞裂解液，于 4°C 避光裂解 5 分钟，离心弃上清，再以 PBS 重悬细胞。

向细胞悬液中依次加入 FITC 标记的 CD68 抗体、PE 标记的 CD86 抗体及 APC 标记的 CD206 抗体，混匀后在 4°C 避光孵育 40 分钟。孵育结束后以 PBS 洗涤细胞并离心，弃上清后加入多聚甲醛固定。经滤网过滤后将细胞悬液转入流式管，使用流式细胞仪检测荧光信号，并通过 FlowJo 软件分析 FITC<sup>+</sup>CD68<sup>+</sup>PE<sup>+</sup>CD86<sup>+</sup>（M1 型）及 FITC<sup>+</sup>CD68<sup>+</sup>APC<sup>+</sup>CD206<sup>+</sup>（M2 型）巨噬细胞比例。

## 2.3 ELISA 法检测血清炎症因子水平

血清样本解冻后在 4°C 下低速离心 5 min，取上清并按试剂盒说明书进行梯度稀释。酶标板依次设置标准孔、样品孔和空白孔，分别加入相应标准品或待测样本。随后加入 HRP 标记检测抗体，封板后于 37°C 孵育 1 h。

孵育结束后弃去孔内液体，使用洗涤液洗板 5 次。各孔加入 TMB 显色液，于 37°C 避光反应 15 分钟，随后加入终止液终止反应，并立即在酶标仪 450 nm 波长下测定吸光度值。以标准品浓度为横坐标、吸光度值为纵坐标绘制标准曲线，根据回归方程计算血清中 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-10 及 TGF- $\beta$  的浓度。

## 2.4 统计学方法

本研究中所有实验数据均以均值±标准差的形式呈现。统计分析及图表生成均通过 GraphPad Prism 9.5 软件完成。对于涉及多组的比较，首先采用单因素方差分析 (one-way ANOVA) 进行整体检验；若分析结果显示组间差异具有统计学意义，则进一步使用 LSD-t 检验进行两两比较。设定 P<0.05 为差异具有统计学意义的阈值。

# 3 结果

## 3.1 雪莲注射液对巨噬细胞 M1、M2 表型的影响

流式细胞术结果显示（图 1），假手术组小鼠巨噬细胞中 M1 型（CD68<sup>+</sup>CD86<sup>+</sup>）占比低，而 M2 型（CD68<sup>+</sup>CD206<sup>+</sup>）占比高。与假手术组相比，模型组 M1 型巨噬细胞比例及 M1/M2 比值显著升高（P<0.01），M2 型比例则显著降低（P<0.01）。给予雪莲注射液干预后，各剂量组均能逆转上述变化，表现为 M1 型比例及 M1/M2 比值下降、M2 型比例上升（均 P<0.01），且该作用呈剂量依赖性（P<0.01）。以上结果表明，雪莲注射液可抑制心肌缺血再灌注损伤小鼠巨噬细胞向 M1 型极化，并促进其向 M2 型转化。

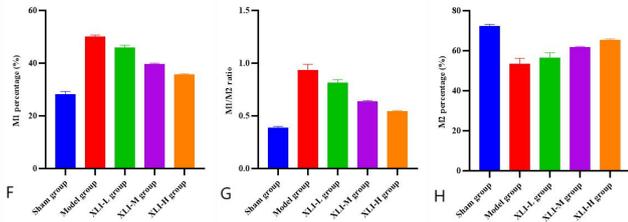


图1 XLI对巨噬细胞表型转化的影响

A-E: 各组小鼠 CD68<sup>+</sup>CD86<sup>+</sup> (M1型) 与 CD68<sup>+</sup>CD206<sup>+</sup> (M2型) 巨噬细胞的流式散点图。F-H: 各组 M1型巨噬细胞比例、M1/M2 比值及 M2型巨噬细胞比例的统计分析。与假手术组比较, \*P<0.001; 与模型组比较, &P<0.001 或 &P<0.01。

### 3.2 雪莲注射液对 M1/M2 型极化相关炎症细胞因子表达影响

ELISA 检测数据(图2)显示,不同处理组小鼠血清中 IL-6、TNF- $\alpha$ 、IL-10 及 TGF- $\beta$  的表达水平存在显著区别。与假手术组比较, 模型组促炎因子 IL-6 和 TNF- $\alpha$  的表达显著上调 (P<0.01), 而抗炎因子 IL-10 和 TGF- $\beta$  水平则明显下降 (P<0.01)。经雪莲注射液干预后, 各剂量组与模型组相比, IL-6 与 TNF- $\alpha$  的表达均呈现下降趋势 (P<0.01), 同时 IL-10 和 TGF- $\beta$  的表达显著升高 (P<0.01)。以上结果提示, 雪莲注射液对 M1 型巨噬细胞相关的促炎因子 (IL-6、TNF- $\alpha$ ) 具有抑制作用, 并能促进 M2 型巨噬细胞相关抗炎因子 (IL-10、TGF- $\beta$ ) 的表达, 体现出其在调控炎症平衡方面的潜在作用。

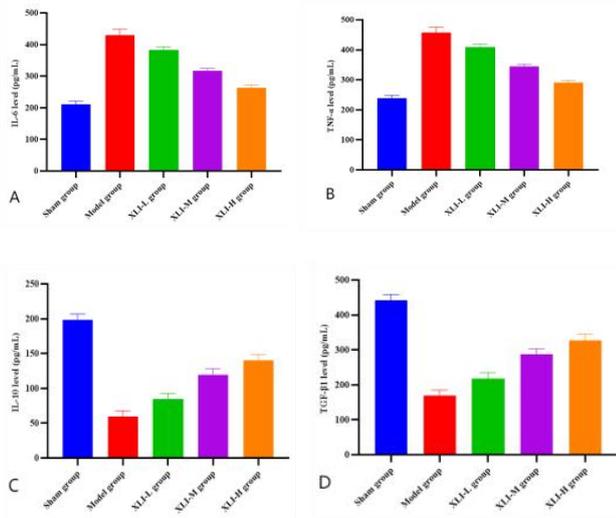


图2 XLI对 IL-6、TNF- $\alpha$ 、IL-10、TGF- $\beta$  水平的影响

A-D: 各组小鼠 IL-6、TNF- $\alpha$ 、IL-10、TGF- $\beta$  的分泌水平。与假手术组比较, \*P<0.001; 与模型组比较, &P<0.001。

## 4 讨论

心血管疾病是导致死亡率和致残率的主要原因, 其中 AMI

是最常见且最具致命性的类型之一。AMI 的发生通常与冠状动脉的急性阻塞有关, 这会导致心机的缺血和随后的细胞坏死。MIRI 是心肌再灌注过程中常见的并发症, 其机制复杂, 涉及氧化应激、炎症反应以及细胞凋亡等多种因素<sup>[11]</sup>。在心肌缺血再灌注过程中, 巨噬细胞的极化状态是调节炎症反应的关键环节: M1 型巨噬细胞的过度活化会加重炎症损伤, 而 M2 型巨噬细胞则能够抑制炎症并促进组织修复<sup>[12-13]</sup>。

巨噬细胞极化在心肌缺血再灌注损伤中的变化也为我们提供了进一步的研究方向。我们的研究显示, 雪莲注射液显著降低了 M1 型巨噬细胞的比例, 增加了 M2 型巨噬细胞的比例, 这一结果与已有文献中关于巨噬细胞极化在心血管疾病中的角色相符<sup>[14-15]</sup>。M1 型巨噬细胞是炎症的“启动者”和“放大器”, 负责清除威胁; 而 M2 型巨噬细胞则是炎症的“调节者”和“终结者”, 负责修复损伤。因此, 雪莲注射液通过促进巨噬细胞向 M2 型极化, 可能减轻了心肌损伤及其相关炎症反应。这一机制的发现为巨噬细胞极化的调控提供了新的视角, 尤其在临床应用中可以借助这一机制来改善心血管疾病的治疗效果。

在炎症因子的变化方面, 雪莲注射液能够有效降低 IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平, 并增加 IL-10 和 TGF- $\beta$  水平, 从而展现出其抗炎作用。这一结果与文献中提出的 IL-6 和 TNF- $\alpha$  在 MIRI 中促进炎症和细胞死亡的作用相一致<sup>[16-17]</sup>。通过抑制促炎细胞因子的表达并增强抗炎细胞因子的水平, 雪莲注射液可能有效减轻心肌缺血再灌注损伤。这一发现强调了调控炎症微环境在 MIRI 治疗中的重要性, 提示未来研究可以探索通过靶向特定炎症因子来开发新的治疗策略。

雪莲注射液在抑制促炎方向 (M1 型极化、IL-6、TNF- $\alpha$ ) 和促进抗炎修复方向 (M2 型极化、IL-10、TGF- $\beta$ ) 上的干预效果均与其剂量正相关。这一发现与文献中对药物剂量选择在心血管疾病治疗中的重要性有着密切的联系<sup>[18-19]</sup>。药物剂量的选择不仅影响治疗效果, 还可能影响安全性, 这提示我们在临床应用中需仔细评估最佳治疗剂量, 以实现最佳的治疗效果和安全性。

综上所述, 本研究揭示了雪莲注射液通过调节巨噬细胞极化的潜在机制, 为心肌缺血再灌注损伤的治疗提供了新的思路。研究结果显示, 雪莲注射液能够有效抑制炎症反应并促进组织修复, 具有重要的临床应用前景。未来的研究应集中于扩大样本量、结合临床数据以及进行长期跟踪观察, 以全面评估雪莲注射液的疗效和安全性, 推动其在心血管疾病治疗中的实际应用。

**参考文献:**

- [1] Spray L, Richardson G, Haendeler J, et al. Cardiovascular inflammaging: Mechanisms, consequences, and therapeutic perspectives. *Cell Rep Med*. 2025;6(9):102264.
- [2] Ziegler KA, Engelhardt S, Carnevale D, et al. Neural Mechanisms in Cardiovascular Health and Disease. *Circ Res*. 2025;136(11):1233-1261.
- [3] Chapman AR, Taggart C, Boeddinghaus J, et al. Type 2 myocardial infarction: challenges in diagnosis and treatment. *Eur Heart J*. 2025;46(6):504-517.
- [4] Xiang Q, Yi X, Zhu XH, et al. Regulated cell death in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Trends Endocrinol Metab*. 2024;35(3):219-234.
- [5] Algoet M, Janssens S, Himmelreich U, et al. Myocardial ischemia-reperfusion injury and the influence of inflammation. *Trends Cardiovasc Med*. 2023;33(6):357-366.
- [6] Du H, You X, Zhang J, et al. CAR Macrophages Engineered In Vivo for Attenuating Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury. *Circ Res*. 2025;137(6):846-859.
- [7] Chen DX, Feng YY, Wang HY, et al. Metrnl ameliorates myocardial ischemia-reperfusion injury by activating AMPK-mediated M2 macrophage polarization. *Mol Med*. 2025;31(1):98. Published 2025 Mar 13.
- [8] Chen S, Yao H, Lou Y, et al. Pharmacological upregulation of macrophage-derived itaconic acid by pubescenoside C attenuated myocardial ischemia-reperfusion injury. *J Adv Res*. 2025;74:571-587.
- [9] Liu C, Sui H, Li Z, et al. THBS1 in macrophage-derived exosomes exacerbates cerebral ischemia-reperfusion injury by inducing ferroptosis in endothelial cells. *J Neuroinflammation*. 2025;22(1):48. Published 2025 Feb 24.
- [10] Chik WI, Zhu L, Fan LL, et al. *Saussurea involucrata*: A review of the botany, phytochemistry and ethnopharmacology of a rare traditional herbal medicine. *J Ethnopharmacol*. 2015;172:44-60.
- [11] Sebastian SA, Shah Y, Paul H, et al. Life's Essential 8 and the risk of cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Prev Cardiol*. 2025;32(5):358-373.
- [12] Zhao J, Cheng W, Dai Y, et al. Excessive accumulation of epicardial adipose tissue promotes microvascular obstruction formation after myocardial ischemia/reperfusion through modulating macrophages polarization. *Cardiovasc Diabetol*. 2024;23(1):236. Published 2024 Jul 5.
- [13] Jiang Y, Yu W, Hu T, et al. Unveiling macrophage diversity in myocardial ischemia-reperfusion injury: identification of a distinct lipid-associated macrophage subset. *Front Immunol*. 2024;15:1335333. Published 2024 Feb 21.
- [14] Lu H, Wang J, Chen Z, et al. Engineered Macrophage Membrane-Coated S100A9-siRNA for Ameliorating Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury. *Adv Sci (Weinh)*. 2024;11(41):e2403542.
- [15] Zhuang L, Zong X, Yang Q, et al. Interleukin-34-NF- $\kappa$ B signaling aggravates myocardial ischemic/reperfusion injury by facilitating macrophage recruitment and polarization. *EBioMedicine*. 2023;95:104744.
- [16] Cheng H, Jin A, Zhang Q, et al. KLF9-Mediated Transcriptional Promotion of HMGB2 Accelerates Cardiomyocyte Apoptosis, Inflammation, and Ferroptosis in Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury. *Cardiovasc Toxicol*. 2025;25(8):1181-1190.
- [17] Mutailifu D, Aini A, Aibibula A, et al. Herbal Munziq Ameliorates Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury by Inhibiting Inflammation. *J Vis Exp*. 2025;(215):10.3791/67179. Published 2025 Jan 10.
- [18] Ma X, Fan Z, Peng J, et al. Ischemic Area-Targeting and Self-Monitoring Nanoprobes Ameliorate Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury by Scavenging ROS and Counteracting Cardiac Inflammation. *Adv Sci (Weinh)*. 2025;12(11):e2414518.
- [19] Wang A, Li Y, Zhao F, et al. Cardioprotective Effect of Licorice Extract Against Myocardial Ischemia and Ischemia/Reperfusion Injury via Blocking Cardiac Inflammation by Sirt3/NLRP3. *Phytother Res*. 2025;39(11):5198-5221.