

分类号：
学号：20232014035

密级：
单位代码：10759

石河子大学 硕士学位论文



异甘草素改善 5-FU 诱导心脏毒性的作用及 机制研究

学位申请人	侯香红
指导教师	李新芝教授
申请学位门类级别	医学硕士
学科、专业名称	基础医学
研究方向	病理学与病理生理学
所在学院	医学院

中国·新疆·石河子
2026年05月

分类号：
学 号：20232014035

密 级：
单位代码：10759

石河子大学

硕士学位论文



异甘草素改善 5-FU 诱导心脏毒性的作用及 机制研究

学 位 申 请 人	候香红
指 导 教 师	李新芝 教授
申 请 学 位 类 别	医学硕士
专 业 名 称	基础医学
研 究 方 向	病理学与病理生理学
所 在 学 院	医学院

中国·新疆·石河子

2026 年 05 月

**Investigating the Role and Mechanism of 5-FU liquiritigenin in
Mitigating 5-Fluorouracil Associated Cardiotoxicity**

A Dissertation Submitted to

Shihezi University

In Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

Master of Medicine

By Xianghong Hou

(Pathology and pathophysiology)

Dissertation Supervisor: Prof. Xinzhi-Li

May, 2026

石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

学位论文独创性声明

本人所呈交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名：侯香红

时间：2026年5月22日

使用授权声明

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名：侯香红

时间：2026年5月22日

导师签名：

李少

摘要

研究目的：5-FU 是一种经典的抗代谢类化疗药物，广泛用于多种实体瘤的治疗。然而，5-FU 可引起较为明显的心脏毒性，临床研究显示其心脏毒性发生率在 1.5%至 18%之间。天然黄酮类化合物异甘草素（ISL）来源于甘草及其他植物的根部，具有抗炎、抗氧化、抗糖尿病及心脏保护等多种生物学活性。目前，关于 ISL 如何干预 5-FU 所致心脏毒性的效应及其潜在机制，尚缺乏系统研究。为此，本研究旨在探究 ISL 发挥心肌保护作用的核心靶标及其相关信号通路，揭示其作用原理，为心血管疾病的治疗提供新的理论依据与潜在干预策略。

研究方法：（1）动物实验：以 C57BL/6 小鼠为实验对象，通过腹腔注射 5-FU 建立心脏毒性动物模型。实验分为两部分：第一部分设 Control 组、5-FU 组、5-FU+ISL-L（20 mg/kg）组、5-FU+ISL-M（40 mg/kg）组、5-FU+ISL-H（80 mg/kg）组及阳性对照 5-FU+UTA 组，造模后给予不同剂量 ISL 灌胃干预 16 天；第二部分设 Control 组、5-FU 组、5-FU+ISL-M（40 mg/kg）组及 5-FU+ISL+CH-223191 组，使用 AhR 抑制剂 CH-223191 明确关键通路。采用 M 型超声心动图检测心功能指标（EF%、FS%、CO）；通过 H&E 和 Masson 染色评估心肌组织病理特征及纤维化程度；检测血清心肌损伤标志物 CK-MB、BNP 的含量；蛋白免疫印迹检测抗氧化蛋白（Nrf2、HO-1、NQO1）、凋亡相关蛋白（Bax、Bcl-2、cleaved caspase-3）及 AhR-CYP1A1 通路蛋白表达。（2）细胞实验：使用 H9c2 心肌细胞构建 5-FU 诱导的体外损伤模型。利用 CCK-8 确定造模浓度，而后与 ISL（20、40、80 μ M）共干预 48 小时，分为 Control 组、5-FU 组及 5-FU+ISL 组。为验证分子机制，利用质粒转染沉默 AhR 表达，分为 Control 组、NC 组、NC+5-FU 组、NC+5-FU+ISL 组、sh-AhR+5-FU 组及 sh-AhR+5-FU+ISL 组。采用 JC-1 染色、流式细胞术及 DCFH-DA 染色分别检测线粒体膜电位和活性氧水平；蛋白免疫印迹分析抗氧化蛋白、凋亡相关蛋白及 AhR-CYP1A1 通路蛋白的表达。（3）转录组测序分析：获取 H9c2 细胞在 Control 组、5-FU 组及 5-FU+ISL（40 μ M）组的样本进行 RNA 测序，结合网络药理学分析筛选差异表达基因并进行富集分析。通过蛋白免疫印迹验证 AhR 及 CYP1A1 的蛋白表达水平，明确 ISL 调控的核心信号通路。

研究结果：（1）动物实验：第一部分：与 Control 组相比，5-FU 组小鼠心功能指标（EF%、FS%、CO）显著下降，血清 CK-MB 及 BNP 水平升高，心肌组织出现明显病理损伤及纤维化；抗氧化蛋白（Nrf2、HO-1、NQO1）及抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达降低，促凋亡蛋白 Bax 及 cleaved caspase-3 表达增强。与 5-FU 组相比，ISL 干预后心功能改善，心肌结构损伤程度减轻，并呈剂量依赖性上调抗氧化及抗凋亡蛋白表达，下调凋亡蛋白表达。第二部分：给予 AhR 抑制剂 CH-223191 后，沉默 AhR 表达可逆转抗氧化及凋亡相关蛋白表达；沉默 AhR 同时给予 ISL 干预，上述改善效果更为显著。（2）细胞实验：第一部分：与 Control 组相比，5-FU 组 H9c2 细胞存活率降低，线粒体膜电位下降，活性氧水平升高；ISL 干预组呈浓度依赖性地提高细胞活力，改善线粒体损伤，降低氧化

应激，上调 Nrf2、HO-1、NQO1 及 Bcl-2 表达，下调 Bax 及 cleaved caspase-3 表达。第二部分：与 NC+5-FU 组相比，沉默 AhR 表达可逆转抗氧化及凋亡相关蛋白表达；沉默 AhR 同时给予 ISL 干预，上述逆转效应更为显著。（3）转录组学分析：转录组测序结合网络药理学显示，5-FU 干预后 CYP1A1 mRNA 水平显著上调，而 ISL 干预后 CYP1A1 表达下调。富集分析提示，ISL 可能通过调控上游靶点 AhR，影响 AhR-CYP1A1 通路，从而抑制 5-FU 诱导的心肌细胞氧化应激与凋亡，减轻心脏毒性。

研究结论：异甘草素可能通过影响 AhR-CYP1A1 通路，减轻 5-FU 诱导的氧化应激和凋亡，进而改善其诱导的心脏毒性。

关键词：5-氟尿嘧啶；异甘草素；氧化应激；凋亡；AhR-CYP1A1 通路

Abstract

Research objective: 5-FU is a classic antimetabolite chemotherapeutic agent widely used in the treatment of various solid tumors. However, 5-FU can induce significant cardiotoxicity, with clinical studies reporting an incidence ranging from 1.5% to 18%. Isoliquiritigenin (ISL), a natural flavonoid compound derived from the roots of licorice and other plants, exhibits multiple biological activities, including anti-inflammatory, antioxidant, antidiabetic, and cardioprotective effects. To date, systematic studies on how ISL intervenes in 5-FU-induced cardiotoxicity and its underlying mechanisms remain insufficient. Therefore, this study aims to identify the core targets and associated signaling pathways through which ISL exerts its cardioprotective effects, elucidate its mechanism of action, and provide new theoretical foundations and potential intervention strategies for the treatment of cardiovascular diseases.

Research methods: (1) Animal experiments: C57BL/6 mice were used to establish a chemotherapy-induced cardiotoxicity model via intraperitoneal injection of 5-FU. The experiment consisted of two parts. In the first part, mice were divided into Control, 5-FU, 5-FU+ISL-L (20 mg/kg), 5-FU+ISL-M (40 mg/kg), 5-FU+ISL-H (80 mg/kg), and positive control 5-FU+UTA groups. After model establishment, different doses of ISL were administered by gavage for 16 days. In the second part, mice were divided into Control, 5-FU, 5-FU+ISL-M (40 mg/kg), and 5-FU+ISL+CH-223191 groups, with the AhR inhibitor CH-223191 used to identify key pathways. Cardiac function parameters (EF%, FS%, CO) were measured by M-mode echocardiography. Histopathological features and fibrosis degree of myocardial tissue were assessed by H&E and Masson staining. Serum levels of cardiac injury markers CK-MB and BNP were detected. Western blotting was performed to measure the expression of antioxidant proteins (Nrf2, HO-1, NQO1), apoptosis-related proteins (Bax, Bcl-2, cleaved caspase-3), and proteins of the AhR-CYP1A1 pathway. (2) Cell experiments: An in vitro 5-FU-induced injury model was established using H9c2 cardiomyocytes. After determining the optimal modeling concentration, cells were co-treated with ISL (20, 40, 80 μ M) for 48 hours and divided into Control, 5-FU, and 5-FU+ISL groups. To validate the molecular mechanism, AhR expression was silenced by plasmid transfection, and cells were divided into Control, NC, NC+5-FU, NC+5-FU+ISL, sh-AhR+5-FU, and sh-AhR+5-FU+ISL groups. Cell viability was assessed by CCK-8 assay. Mitochondrial membrane potential and reactive oxygen species levels were measured by JC-1 staining, flow cytometry, and DCFH-DA staining. The expression levels of antioxidant and apoptosis-related proteins were quantitatively analyzed by Western blotting. (3) Transcriptomic analysis: Samples of H9c2 cells under three conditions (Control, 5-FU, and 5-FU+ISL at 40 μ M) were subjected to transcriptome sequencing. Combined with network pharmacology analysis, differentially expressed genes were screened and enrichment analyses were performed. The

protein expression levels of the key pathway targets AhR and CYP1A1 were verified by Western blotting to further clarify the core signaling pathway regulated by ISL.

Research results: (1) Animal experiments: In the first part of the animal experiment, In the 5-FU group, cardiac function parameters (EF%, FS%, CO) were significantly lower than those in the Control group, accompanied by higher serum concentrations of CK-MB and BNP, and evident pathological damage and fibrosis in myocardial tissue. Concurrently, Nrf2, HO-1, NQO1, A reduction in Bcl-2 expression was observed, accompanied by an elevation in Bax and cleaved caspase-3 levels, two pro-apoptotic proteins, were upregulated. Compared with the 5-FU group, ISL intervention significantly improved cardiac function, restored myocardial morphology and fiber arrangement, ISL dose-dependently upregulated antioxidant and anti-apoptotic proteins and downregulated pro-apoptotic proteins. In the second part, after administration of the AhR inhibitor CH-223191, the combined intervention group showed further improvement in cardiac function, significantly reduced myocardial pathological changes and fibrosis, Nrf2, HO-1, NQO1. In comparison to the 5-FU group, anti-apoptotic protein expression was upregulated, whereas pro-apoptotic protein expression was downregulated. (2) In the first part of the cell experiment, 5-FU intervention markedly reduced H9c2 cell viability, induced mitochondrial membrane potential loss, and promoted ROS generation compared with the Control group. Conversely, ISL treatment reversed these effects and enhanced cell viability in a concentration-dependent manner, ameliorated mitochondrial damage, reduced oxidative stress levels, increased expression was observed for Nrf2, HO-1, NQO1, accompanied by an increase in Bcl-2 expression and a decrease in Bax and cleaved caspase-3 levels. In the second part, compared with the NC+5-FU group, silencing AhR expression reversed the protein expression of Nrf2, HO-1, NQO1 and Bax, Bcl-2. When ISL intervention was combined with AhR silencing, the reversal of these oxidative stress- and apoptosis-related protein markers was further amplified. (3) Transcriptomic analysis: Transcriptome sequencing combined with network pharmacology analysis revealed that 5-FU intervention significantly upregulated CYP1A1 mRNA levels, whereas ISL intervention downregulated CYP1A1 expression. Enrichment analysis further suggested that ISL may inhibit 5-FU-induced oxidative stress and apoptosis in cardiomyocytes by regulating its upstream target AhR, thereby affecting the AhR-CYP1A1 pathway and alleviating cardiotoxicity.

Research conclusion: ISL attenuates 5-FU-induced oxidative stress and apoptosis through regulation of the AhR-CYP1A1 pathway, thereby alleviating 5-FU-induced cardiotoxicity.

Key words: 5-fluorouracil; isoliquiritigenin; oxidative stress; apoptosis; AhR-CYP1A1 pathway

目录

摘要.....	I
Abstract.....	III
目录.....	V
中英文缩略词表.....	VII
第1章 前言.....	1
第2章 材料与方法.....	4
2.1 试剂材料与实验仪器.....	4
2.1.1 试剂与实验材料.....	4
2.1.2 仪器设备与器材.....	6
2.1.3 试剂配制.....	7
2.2 实验方法.....	8
2.2.1 动物模型制备.....	8
2.2.2 超声心动图检测.....	8
2.2.3 酶联免疫吸附法.....	8
2.2.4 组织包埋、切片.....	9
2.2.5 H&E 染色.....	10
2.2.6 Masson 染色.....	10
2.2.7 蛋白免疫印迹实验.....	11
2.2.8 细胞培养.....	13
2.2.9 CCK-8.....	15
2.2.10 JC-1 荧光染色.....	16
2.2.11 DCFH-DA 染色.....	16
2.2.12 DCFH-DA 探针结合流式细胞术.....	16
2.2.13 RNA 测序.....	16
2.2.14 网络药理学.....	17
2.2.15 sh-AhR 敲低细胞模型的构建.....	17
2.2.16 数据处理及统计学分析.....	17
第3章 实验结果.....	18
3.1 ISL 对 5-FU 诱导 C57BL/6 小鼠心肌损伤、纤维化、氧化应激、凋亡的作用研究.....	18

3.1.1 ISL 改善 5-FU 诱导小鼠心脏功能障碍	18
3.1.2 CK-MB、BNP 在各组小鼠血清中的水平变化	19
3.1.3 H&E 染色观察各组小鼠心肌组织病理改变	19
3.1.4 Masson 染色对各组小鼠心肌组织进行纤维化检测	20
3.1.5 氧化应激相关蛋白在各组小鼠心肌组织中的表达	21
3.1.6 凋亡相关蛋白在各组小鼠心肌组织中的表达	21
3.2 ISL 对 5-FU 诱导 H9c2 心肌细胞氧化应激、线粒体损伤、凋亡的作用研究	22
3.2.1 构建 5-FU 诱导的 H9c2 心肌细胞损伤模型	22
3.2.2 ISL 干预对 H9c2 心肌细胞存活率的影响	23
3.2.3 DCFH-DA 探针结合流式细胞术检测各组 H9c2 心肌细胞氧化应激水平 ..	24
3.2.4 DCFH-DA 荧光检测各组 H9c2 心肌细胞氧化应激水平	25
3.2.5 蛋白免疫印迹实验检测各组 H9c2 心肌细胞氧化应激相关蛋白表达	26
3.2.6 JC-1 荧光染色检测各组 H9c2 心肌细胞线粒体膜电位水平	26
3.2.7 蛋白免疫印迹实验检测各组 H9c2 心肌细胞凋亡相关蛋白表达	27
3.3 ISL 对 5-FU 诱导的 H9c2 心肌细胞损伤的作用机制研究	28
3.3.1 ISL 对 5-FU 诱导 H9c2 心肌细胞差异表达基因的 RNA 测序分析	28
3.3.2 网络药理学和 KEGG 富集分析	29
3.3.3 蛋白免疫印迹实验验证 ISL 调控 AhR-CYP1A1 信号通路	30
3.3.4 sh-AhR 敲低细胞模型的构建	30
3.3.5 体外实验证明 ISL 通过 AhR-CYP1A1 通路改善 5-FU 诱导 H9c2 心肌细胞 损伤	31
3.3.6 体内实验证明 ISL 通过 AhR-CYP1A1 通路改善 5-FU 诱导小鼠心脏毒性	34
第 4 章 讨论	38
第 5 章 结论与展望	41
文献综述	42
参考文献	47
致谢	54
作者简介	56
导师评阅表	57

中英文缩略词表

LIST OF ABBREVIATIONS

英文缩写	英文全称	中文译名
Acr	Acrylamide	丙烯酰胺
AhR	Aryl hydrocarbon receptor	芳香烃受体
AP	Ammonium persulphate	过硫酸铵
Bax	BCL 2-associated X	BCL 2-Associated X 的蛋白质
Bcl-2	B-cell lymphoma-2	B 淋巴瘤-2 基因
BCA	Bicinchoninic acid	二喹林甲酸
BNP	Brain Natriuretic Peptide	脑钠肽
BSA	Bovine serum albumin	牛血清白蛋白
CCK-8	Cell Counting Kit-8	细胞计数试剂
CYP1A1	Cytochrome P450 Family 1 Sub-family A Member 1	细胞色素 P450 1A1 家族成员 1
CK-MB	Creatine Kinase-MB	肌酸激酶同工酶
CO	cardiac output	心输出量
ddH ₂ O	Distillation-distillation H ₂ O	双蒸水
DMEM	Dulbecco's modified Eagle's medium	基础培养基
DNA	Deoxyribonucleic Acid	脱氧核糖核酸
DMSO	Dimethyl sulfoxide	二甲基亚砷
ES	Enrichment score	富集分数
EF	Ejection Fraction	射血分数
FBS	Fetal bovine serum	胎牛血清
FUTP	Fluorouridine triphosphate	氟尿苷三磷酸
FS	Fractional Shortening	缩短分数
GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	甘油醛-3-磷酸脱氢酶
Gly	Glycine	甘氨酸

GSEA	Gene set enrichment analysis	基因集富集分析
H&E	Hematoxylin and eosin	苏木素-伊红
IC50	half maximal inhibitory concentration	半数抑制浓度
ISL	Isoliquiritigenin	异甘草素
LVAW	Left ventricular anterior wall	左心室收缩末期内径
OD	Optical density	光密度
PVDF	Polyvinylidene fluoride	聚偏二氟乙烯膜
PMSF	Phenylmethanesulfonyl fluoride	苯甲基磺酰氟
PBS	Phosphate buffer solution	磷酸盐缓冲液
RNA	Ribonucleic Acid	核糖核酸
ROS	reactive oxygen species	活性氧
RIPA	Radioimmunoprecipitation assay buffer	放射免疫沉淀法缓冲液
TEMED	Tetram ethylethylenediamine	四甲基乙二胺
TBS	Tris buffered saline	三乙醇胺缓冲盐溶液
Tris	Tris-(hydroxymethyl)-amino-methane	三羟甲基氨基甲烷
TBST	Tris-buffered saline Tween-20	三羟甲基氨基甲烷缓冲液
UTA	Uridine triacetate	尿苷三乙酸酯
UTP	Uridine-5'-triphosphate	尿苷三磷酸
β -actin	Beta-actin	β -肌动蛋白
5-FU	5-fluorouracil	5-氟尿嘧啶

第1章 前言

近年来，全球癌症患者人数居高不下，中国人口基数大，患癌人数占比达到24.1%，跃居世界首位。癌症的发病与死亡情况仍不容乐观，是影响人类健康的主要病因之一^[1]。在全球公共卫生视野下，癌症所带来的压力早已超越患者个体范畴，深刻影响着家庭与社会，构成一项极为严峻的健康挑战。当前，癌症的发病情况和死亡人数仍未得到有效控制，相关防治研究尤为迫切。

作为嘧啶类抗肿瘤药物的代表，5-氟尿嘧啶（5-Fluorouracil, 5-FU）应用广泛，是一种抗代谢类化疗药物^[2]，通过不可逆的抑制胸苷酸合成酶，从而干扰肿瘤细胞内DNA与RNA的合成^[3]，进而抑制其增殖。临床主要用于胃肠癌、乳腺癌、头颈癌、结肠癌等多种癌症的治疗^[4]，5-FU主要经肝脏代谢，小部分在肾脏代谢。由于5-FU对于癌症的治疗是非靶向的，所以它的细胞毒性不仅针对和破坏肿瘤细胞，还针对正常细胞^[5]。常见副作用为恶心呕吐，腹泻脱发等，最严重的临床副作用是心脏毒性^[6]。临床研究表明使用5-FU引起的心脏毒性的发生率在1.5%-18%之间变化。关于心脏毒性的临床表现较多，通常为心绞痛，心力衰竭，心脏骤停等^[7]，最常见的临床副作用为心绞痛。17例5-FU诱导的心脏毒性病例中，高达15例以心绞痛为主要表现，停药后症状自行消退^[8]。另有一例结肠癌男性患者，在静脉输注5-FU期间发生心绞痛，心电图呈现T波倒置，除了心绞痛，静脉输注5-FU也会引起心律失常^[9]。一名结肠癌患者，在5-FU联合奥沙利铂的治疗方案中，出现了心房颤动和血管痉挛^[10]。所以，5-FU诱导的心脏毒性事件多发生在首次应用5-FU，主要症状为心电图异常和左心室功能病变^[11]。上述情况可能与用药剂量、心脏合并症及化疗方案密切相关。若未能及时识别，5-FU引起的心脏毒性在临床处理上将面临较大挑战。5-FU诱导的心脏损伤涉及多个环节，氧化应激被认为是核心机制之一。5-FU及其代谢产物可促使心肌细胞内活性氧大量生成，超出机体抗氧化防御能力，表现为线粒体功能障碍、脂质过氧化增强及DNA损伤，另外，细胞凋亡与自噬之间的平衡也发生紊乱，凋亡相关蛋白的异常表达激活caspase级联反应，推动心肌细胞程序性死亡。上述机制相互交织，共同构成5-FU心脏毒性的复杂病理基础。

面对这一临床难题，研究者们尝试了多种干预策略。在对抗5-FU心脏毒性的过程中发现，尿苷三乙酸酯（Uridine triacetate, UTA）作为口服有效的尿苷前体药物，发挥着独特的解毒功能。其核心作用机制基于药物代谢动力学的竞争性抑制原理，通过从代谢源头进行干预，阻止毒性代谢产物对正常细胞造成进一步损害。然而，正是这种独特的竞争性机制，也引出了该药物最重要的临床应用限制，即它的使用可能会干

扰 5-FU 的抗肿瘤疗效。尿苷三乙酸酯保护正常细胞，同样也可能保护肿瘤细胞免受 5-FU 的攻击^[12]，因此在非紧急情况下，它被明确不推荐用于治疗 5-FU 或卡培他滨常见的不良反应，因为这可能会降低化疗药物的抗癌效果。这一弊端决定了其严格的使用范围，它仅被批准用于紧急情况。

近年来，围绕 5-FU 化疗相关心脏毒性的治疗策略，学术界开展了广泛研究，但都具有局限性，且二次使用 5-FU 后，心脏毒性的病发率高达 82%^[13]。目前临床常用的措施包括停药、减量、使用硝酸酯类药物或钙通道阻滞剂等对症处理，但这些方法往往无法从根本上解决问题，部分干预还可能影响抗肿瘤疗效。因此，寻找既能有效降低 5-FU 心脏毒性、又不影响其抗肿瘤疗效的药物，已成为临床亟待解决的现实问题。开发此类保护剂，对于提高化疗安全性、改善患者预后具有重要意义。

异甘草素 (Isoliquiritigenin, ISL) 是甘草中的成分^[14]，主要从甘草及其他植物的根部分离得到。甘草作为传统中药材，自古以来广泛应用于调和诸药、清热解毒、润肺止咳等方剂之中。ISL 作为其活性成分之一，不仅存在于药用植物中，也见于日常食物如葛根和大豆等，这使得它兼具药源与食源性双重属性，具有良好的生物安全性基础^[15]。研究发现，ISL 具备多种药理活性，其中包括抗炎^[16]、抗氧化^[17]、抗动脉粥样硬化及心脏保护功能。ISL 已在多种心血管疾病模型中展现出良好的疗效。在糖尿病心肌病模型中，研究者采用链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠模型，观察到糖尿病状态下左心室射血分数 LVEF 和左心室短轴缩短率 LVFS 显著下降^[18]，心肌细胞凋亡水平明显增加。另有研究表明，在心肌缺血/再灌注模型中，组织病理学检查表明，心肌细胞出现明显肥厚，肌纤维排列紊乱，Masson 染色可见心肌间质胶原沉积增多，提示心肌纤维化形成，而在给予 ISL 干预后，上述病理改变均得到不同程度的逆转，心功能指标有所改善，细胞凋亡率降低，心肌肥厚与纤维化程度明显减轻^[19]。据相关文献报导，ISL 可直接作用于心肌细胞，通过调节凋亡相关蛋白 Bax 与 Bcl-2 的表达平衡，减少线粒体膜电位的丧失，从而抑制高糖或氧化应激诱导的心肌细胞损伤^[20]。上述研究提示，ISL 在糖尿病心肌病模型中具有明确的心脏保护作用，其机制与抗氧化、抗凋亡及改善线粒体功能密切相关。除糖尿病心肌病外，ISL 在其他心血管疾病模型中也显示出保护效应。采用缺血再灌注损伤模型的研究显示，ISL 可减轻心肌梗死面积，改善心功能的恢复情况；在阿霉素诱导的心脏毒性模型中，ISL 通过减轻氧化应激和抑制细胞凋亡，缓解阿霉素所致的心肌损伤^[21]。这些研究共同表明，ISL 具有广谱的心脏保护潜力，其作用机制可能与其激活 Nrf2/HO-1 抗氧化通路^[22]、抑制炎症反应及调控凋亡信号有关。尽管 ISL 在多种心脏损伤模型中展现出保护作用，但目前尚未有文献证实异甘草素通过影响 AhR-CYP1A1 信号通路对改善 5-FU 所致的心脏毒性的作用及机制。

在细胞色素 P450 家族中，CYP1A1 作为重要的代谢酶成员，发挥着关键作用，它主要负责代谢外源性物质包括多环芳烃、芳胺类环境污染物以及部分内源性化合物，

其表达受到芳香烃受体 AhR 的严格调控^[23]。AhR 本身是一种配体激活的转录因子，在未被激活时与伴侣蛋白结合定位于细胞质中，当与外源性配体或某些内源性代谢产物结合后，AhR 发生构象变化并转位进入细胞核，与芳香烃受体核转位子形成异源二聚体^[24]，这个二聚体随后结合到靶基因启动子区域的外源性物质响应元件上，从而启动下游基因包括 CYP1A1 的转录。因此 AhR-CYP1A1 信号通路构成了细胞感应外源性物质并启动代谢反应的核心轴心^[25]。研究表明，急性铅中毒可通过激活 AhR-CYP1A1 信号通路诱导心脏功能障碍，提示该通路参与重金属暴露所致的心血管毒性^[26]。此外，利用 CYP1A1 典型诱导剂 2,3,7,8-四氯二苯并对二恶英（TCDD）处理大鼠心肌 H9c2 细胞的研究进一步证实，该化合物可在 mRNA、蛋白质及酶活性水平上显著上调 CYP1A1 表达，并伴随氧化应激水平的升高^[27]。这些发现表明，AhR-CYP1A1 信号通路不仅在外源性物质的代谢解毒中发挥关键作用，其异常激活所引发的氧化应激反应亦可能成为心肌损伤的重要机制。因此，深入阐明 AhR-CYP1A1 信号通路在心血管系统中的调控机制，对于心血管疾病的发病机理及探索潜在干预靶点具有重要意义。

基于上述实验，本研究拟通过体内外实验探讨异甘草素是否影响 AhR-CYP1A1 信号通路改善 5-FU 诱导的心脏毒性，并采用网络药理学与转录组学相结合，分析异甘草素作用 5-FU 诱导的心脏毒性的作用靶点，最后通过体内外实验验证预测的靶点及信号通路，探讨异甘草素改善 5-FU 诱导心脏毒性的作用机制。

第2章 材料与方法

2.1 试剂材料与实验仪器

2.1.1 试剂与实验材料

表 2-1 试剂与实验材料

试剂名称	公司及产地
5-氟尿嘧啶 (B25419)	上海源叶, 中国
异甘草素 (B21525)	上海源叶, 中国
尿苷三乙酸酯 (HY-14905)	MCE, 美国
磷酸盐缓冲液 (PBS)	博士德, 中国
BNP 试剂盒	江莱生物, 中国
无血清细胞冻存液	新赛美, 中国
胎牛血清 (FBS)	BI, 以色列
高糖培养基 DMEM	赛百慷, 中国
CK-MB 试剂盒	江莱生物, 中国
青、链霉素	Hyclone, 美国
胰蛋白酶	Hyclone, 美国
中性树胶	索莱宝, 中国
苏木素-伊红染液	中杉金桥, 中国
二甲基亚砷	索莱宝, 中国
胰酶粉	索莱宝, 中国
冰醋酸	富宇, 中国
4%多聚甲醛	白鲨, 中国
Tween 20	白鲨, 中国
BCA 蛋白浓度测定试剂盒	赛默飞, 美国
CCK-8 试剂盒	APE x Bio, 美国
甘氨酸	Biotopped, 中国
Masson 三色染色试剂盒	南京建成, 中国
ECL 化学发光底物试剂盒	白鲨, 中国
NaCl	富宇, 中国