

分类号：
学 号：20222014009

密 级：
单位代码：10759

石河子大学

硕 士 学 位 论 文



樱黄素对心肌梗死的治疗作用及机制研究

学 位 申 请 人	蔡萌
指 导 教 师	王洋副教授
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	心血管疾病的发病机制
所 在 学 院	医学院

中国·新疆·石河子

2025 年 05 月

分类号：
学 号：20222014009

密 级：
单位代码：10759

石河子大学

硕 士 学 位 论 文



樱黄素对心肌梗死的治疗作用及机制研究

学 位 申 请 人	蔡萌
指 导 教 师	王洋副教授
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	心血管疾病的发病机制
所 在 学 院	医学院

中国·新疆·石河子
2025 年 05 月

**Research on the therapeutic effect and mechanism of prunetin on
myocardial infarction**

A Dissertation Submitted to

Shihezi University

In Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

Master of Medicine

By

Meng Cai

(Pathology and Pathophysiology)

Dissertation Supervisor:

Associate Prof. Yang Wang

May 2025

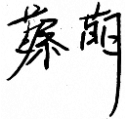
Shihezi Xinjiang China

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：



时间： 2025 年 5 月 28 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：



时间： 2025 年 5 月 28 日

导师签名：



时间： 2025 年 5 月 28 日

摘要

目的：心肌梗死（Myocardial Infarct, MI）可导致心脏缺血和心肌细胞不可逆性死亡，手术预后差，并且梗死后的心力衰竭、心律失常发生率极高，严重危害患者生存质量。因此，急需探索一种可提高患者生存周期，改善患者生存质量的治疗方式。樱黄素（Prunetin, Pru）可从鸡血藤、红花、玫瑰等天然植物中提取，具有抗炎、抗氧化应激、保护与治疗心血管疾病等作用。然而，其对心肌梗死是否具有改善作用尚不明确。本研究旨在通过体内外实验、网络药理学、分子对接分析等多种研究方法，探讨樱黄素在心肌梗死中的治疗作用，并阐明其作用机制。

方法：（1）体内实验：采用左前降支冠状动脉结扎（LAD）的手术造模方式诱导 C57BL/6 小鼠形成 MI 疾病模型，动物实验分为以下五个组：假手术组（sham）组、MI 组、樱黄素低剂量组（MI+L-Prunetin 组）、樱黄素高剂量组（MI+H-Prunetin 组）和依那普利阳性药物组（MI+Enalaprilat 组），每组 10 只。造模后次日开始给药，MI+L-Prunetin 组以 5 mg/kg/d 的剂量腹腔注射樱黄素持续 21 天，MI+H-Prunetin 组以 10 mg/kg/d 的剂量腹腔注射樱黄素持续 21 天，MI+Enalaprilat 组以 2 mg/kg/d 的剂量灌胃给药持续 21 天，sham 组和 MI 组腹腔注射与治疗组同等体积的生理盐水持续 21 天。通过监测各组小鼠的体重，通过超声检测、心肌损伤标志物检测、H&E 染色与 Masson 染色观察樱黄素对小鼠心功能的影响。免疫组织化学、免疫荧光实验、WGA/IB4 染色、血管内皮生长因子（VEGF）检测观察樱黄素对心肌梗死小鼠梗死后血管生成能力的影响。

（2）体外实验：为模拟心肌梗死后内皮细胞损伤状态，需采用三气培养箱缺氧培养人脐静脉内皮细胞（HUVEC）建立体外疾病模型。细胞实验分为以下五个组：常氧组（Normoxia, Nor 组）、氧糖剥夺模型组（Oxygen and glucose deprivation, OGD 组）、氧糖剥夺模型+低剂量樱黄素治疗组（OGD+L-Prunetin 组）、氧糖剥夺模型+中剂量樱黄素治疗组（OGD+M-Prunetin 组）、氧糖剥夺模型+高剂量樱黄素治疗组（OGD+H-Prunetin 组）。Nor 组常氧培养 24 小时；OGD 组常规培养 24 小时后缺氧培养 8 小时；OGD+L-Prunetin 组 5 μ M 樱黄素常氧处理 24 小时后，将内皮细胞进行缺氧培养 8 小时，缺氧培养时 5 μ M 樱黄素持续干预；OGD+M-Prunetin 组 10 μ M 樱黄素常氧处理 24 小时后，将内皮细胞进行缺氧培养 8 小时，缺氧培养时 10 μ M 樱黄素持续干预；OGD+H-Prunetin 组 15 μ M 樱黄素常氧处理 24 小时后，将内皮细胞进行缺氧培养 8 小时，缺氧培养时 15 μ M 樱黄素持续干预。CCK8 实验、EDU 实验、划痕实验、Transwell 实验、管样形成实验检测樱黄素对各组内皮细胞增殖、迁移、管形成能力的影响，免疫蛋白印迹试验检测樱黄素对各组内皮细胞内增殖细胞核抗原（PCNA）、基质金属蛋白酶 9（MMP-9）、VEGFA 蛋白表达量的影响。

（3）樱黄素改善心肌梗死的机制研究：基于网络药理学，从多个数据库中收集樱黄素与心肌梗死的靶点进行整合，通过蛋白互作分析界定药物与心肌梗死关键靶点，借助 KEGG 富集分析预测

樱黄素在心肌梗死中可能涉及的信号通路，分子对接分析樱黄素与相关通路关键靶点的对接亲和性，并通过 Western Blot 检测体外模型中相关通路蛋白的表达水平。

结果：（1）体内实验结果显示，樱黄素可改善心肌梗死后小鼠的心功能，并促进了小鼠心肌梗死后血管生成。心肌梗死后小鼠体重增长速率下降，出现心肌肥大表现；左心室射血分数（LVEF）和左心室短轴缩短率（LVFS）显著降低；血清内心肌损伤酶 CK-MB 与 cTn-I 含量上升；组织炎性细胞浸润增加，纤维化明显。樱黄素治疗后小鼠状态得到改善；LVEF 和 LVFS 有所升高；血清 CK-MB 与 cTn-I 含量显著下降；炎性细胞减少，肌纤维紊乱减轻，心肌纤维化面积减小；心肌梗死后血管内皮标志物 CD31 表达量上升；血管标志物 IB4/心肌细胞膜标志物 WGA 比值上升；血清内 VEGF 的水平上升。

（2）体外实验结果表明，樱黄素的干预增强了损伤内皮细胞的增殖、迁移、血管生成能力。通过 CCK-8 实验检测缺氧 4 小时、缺氧 8 小时、缺氧 12 小时内皮细胞的活性。与对照组相比，缺氧 8 小时细胞活性达到损伤模型标准，故选择缺氧 8 小时为最终缺氧时间。CCK-8 表明内皮细胞在樱黄素药物浓度达到 20 μM 时细胞存活率出现下降的趋势，在 20 μM 浓度下对细胞存活无损伤，故选取 5 μM 为低浓度、10 μM 为中浓度、15 μM 为高浓度，作为后续细胞实验干预浓度。相较于 OGD 组，OGD+M-Prunetin 组与 OGD+H-Prunetin 组显著改善了氧糖剥夺后内皮细胞的活性，增加了 EdU 的阳性细胞数比例，改善了内皮细胞的增殖能力。此外，划痕实验、Transwell 实验结果显示樱黄素增强了内皮细胞的横向迁移的能力与纵向迁移的能力，管形成实验结果显示樱黄素促进了缺氧后内皮细胞的小管形成，Western Blot 表明樱黄素显著上调了内皮细胞内 PCNA、MMP-9、VEGFA 的蛋白表达。

（3）樱黄素可能通过激活 EGFR/PI3K/AKT 信号通路的表达，改善心肌梗死后小鼠心功能。网络药理学分析发现樱黄素与心肌梗死两者之间存在 68 个共同靶点。分子对接分析表明，樱黄素与靶点蛋白表皮生长因子（EGFR）高度亲和。富集分析表明樱黄素可能通过调控 EGFR/PI3K/AKT 信号通路改善心肌梗死。随后，通过 Western Blot 检测了体外模型中 EGFR、PI3K、AKT、p-PI3K、p-AKT 蛋白的表达水平，结果显示与氧糖剥夺后内皮细胞相比，樱黄素治疗组可以促进 EGFR、p-PI3K、p-AKT 蛋白显著上调，而 PI3K 和 AKT 蛋白水平无显著改变。

结论：心肌梗死后内皮细胞活性、增殖、迁移能力的下降，进而影响血管生成；樱黄素通过刺激 EGFR，激活 EGFR 信号轴，引发 PI3K/AKT 信号通路磷酸化水平上调，促进 DNA 合成转录，刺激内皮细胞增殖、迁移及管样形成，从而促进血管生成作用并减轻心肌梗死损伤，改善心功能。

关键词： 樱黄素；心肌梗死；内皮细胞；网络药理学

研究类型： A（基础研究）

Abstract

Objective: Myocardial infarction (MI) can lead to cardiac ischemia and irreversible death of cardiomyocytes, with poor surgical prognosis and a very high incidence of post-infarction heart failure and arrhythmia, which seriously jeopardizes the quality of patient survival. Therefore, there is an urgent need to explore a therapeutic modality that can increase the survival cycle and improve the quality of patients' survival. Prunetin (Pru), which can be extracted from natural plants such as henbane, saffron, and rose, has anti-inflammatory, anti-oxidative stress, and protective and therapeutic effects against cardiovascular diseases. However, whether it has ameliorative effects on myocardial infarction is unclear. The aim of this study was to investigate the therapeutic effects of Prunetin in myocardial infarction and to elucidate its mechanism of action through various research methods, such as *in vivo* and *ex vivo* experiments, network pharmacology, and molecular docking analysis.

Methods: (1) *In vivo* experiments: the surgical modeling of left anterior descending coronary artery ligation (LAD) was used to induce the formation of MI disease model in C57BL/6 mice, and the animal experiments were divided into the following five groups: sham (sham) group, MI group, Prunetin Low-dose group (MI+L-Prunetin group), Prunetin high-dose group (MI+H-Prunetin group), and enalaprilat Positive drug group (MI+Enalaprilat group), 10 animals in each group. The drug administration started on the next day after modeling, Prunetin was administered intraperitoneally at a dose of 5 mg/kg/d for 21 days in the MI+L-Prunetin group, Prunetin was administered intraperitoneally at a dose of 10 mg/kg/d for 21 days in the MI+H-Prunetin group, and Enalaprilat was administered by gastric gavage at a dose of 2 mg/kg/d for 21 days in the MI+Enalaprilat group, sham group and MI group were injected intraperitoneally with the same volume of saline as the treatment group for 21 days. The effects of Prunetin on the cardiac function of mice were observed by monitoring the body weight of mice in each group, and by ultrasonography, myocardial injury marker assay, H&E staining and Masson staining. The effects of Prunetin on post-infarction angiogenic capacity of myocardial infarction mice were observed by immunohistochemistry, immunofluorescence assay, WGA/IB4 staining, and vascular endothelial growth factor (VEGF) assay.

(2) To simulate the state of endothelial cell injury after myocardial infarction, human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) need to be cultured hypoxia in triple gas incubator to establish an *in vitro* disease model. The cell experiments were divided into the following five groups: normoxia group (Normoxia, Nor group), oxygen and glucose deprivation model group (OGD group), oxygen and glucose deprivation model + low-dose Prunetin treatment group (OGD+L-Prunetin group), oxygen and glucose deprivation model + medium-dose Prunetin treatment group (OGD+M- Prunetin group), oxygen and glucose deprivation model + medium-dose Prunetin treatment group (OGD+M- Prunetin group), and oxygen and glucose deprivation

model + medium-dose Prunetin treatment group (OGD+M- Prunetin group). Prunetin group), oxygen glucose deprivation model + high-dose Prunetin treatment group (OGD+H-Prunetin group). Nor group was cultured normoxically for 24 hours; OGD group was cultured routinely for 24 hours followed by anoxic culture for 8 hours; and OGD+L-Prunetin group was subjected to anoxic culture of the endothelial cells for 8 hours after normoxic treatment with 5 μ M Prunetin for 24 hours, and hypoxic culture was performed when the 5 μ M Prunetin continuous intervention; OGD+M-Prunetin group 10 μ M Prunetin normoxic treatment 24 hours later, the endothelial cells were subjected to hypoxic culture for 8 hours, and hypoxic culture was 10 μ M Prunetin continuous intervention; OGD+H-Prunetin group 15 μ M Prunetin normoxic treatment 24 hours later, the endothelial cells were subjected to hypoxic culture for 8 hours, and hypoxic culture was 15 μ M Prunetin continuous intervention. M Prunetin continuous intervention. CCK8 assay, EDU assay, scratch assay and Transwell assay, tube-like formation assay were used to detect the effects of Prunetin on the proliferation, migration, and tube-forming ability of endothelial cells in each group, and immunoprotein blotting assay was used to detect the effects of Prunetin on the expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA), matrix metalloproteinase 9 (MMP-9), and VEGFA proteins in endothelial cells in each group. expression.

(3) Mechanism study of Prunetin to improve myocardial infarction: based on network pharmacology, the targets of Prunetin and myocardial infarction were collected from multiple databases for integration, the key targets of drug and myocardial infarction were defined by protein interactions analysis, the signaling pathways that may be involved in myocardial infarction were predicted with the help of KEGG enrichment analysis, and molecular docking analysis was performed to analyze the docking affinities of Prunetin and key targets of the relevant pathways and Molecular docking was used to analyze the docking affinity of sakuranetin with the key targets of the relevant pathways, and the expression levels of the relevant pathway proteins in the in vitro model were detected by Western Blot.

Results: (1) The results of in vivo experiments showed that Prunetin improved cardiac function and promoted angiogenesis in mice after myocardial infarction. After myocardial infarction, mice showed decreased body weight growth rate and cardiac hypertrophy; left ventricular ejection fraction (LVEF) and left ventricular short-axis shortening (LVFS) were significantly reduced; serum levels of the myocardial injury enzymes, CK-MB and cTn-I, increased; and tissue inflammatory cell infiltration increased, with obvious fibrosis. After Prunetin treatment, the status of mice was improved; LVEF and LVFS increased; serum CK-MB and cTn-I levels decreased significantly; inflammatory cells were reduced, myofibrillar disorders were reduced, and myocardial fibrosis was reduced in area; expression of the vascular endothelial marker CD31 increased after myocardial infarction; the ratio of the vascular marker IB4/cardiac myocyte membrane marker WGA increased; and the serum level of VEGF levels increased.

(2) The results of in vitro experiments showed that the intervention of Prunetin enhanced the proliferation, migration, and angiogenesis of injured endothelial cells. The activity of endothelial cells was

detected by CCK-8 assay at 4 hours of hypoxia, 8 hours of hypoxia and 12 hours of hypoxia. Compared with the control group, the cell activity of 8 hours of hypoxia reached the standard of injury model, so 8 hours of hypoxia was selected as the final hypoxia time. CCK-8 showed that the endothelial cells showed a decreasing trend of cell survival when the concentration of Prunetin drug reached 20 μM , and there were no toxic side effects at the concentration of 20 μM , so 5 μM was selected as the low, 10 μM as the middle, and 15 μM as the high concentration as the subsequent cell experimental intervention concentration. Compared with the OGD group, the OGD+M-Prunetin group and the OGD+H-Prunetin group significantly improved the activity of endothelial cells after oxygen glucose deprivation, increased the proportion of positive cell number of EdU, and improved the proliferation ability of endothelial cells. In addition, the results of scratch assay and Transwell showed that Prunetin enhanced the ability of endothelial cells to migrate horizontally and vertically, the results of tube formation assay showed that Prunetin promoted the formation of tubules in endothelial cells after oxygen deprivation, and Western Blot demonstrated that Prunetin significantly up-regulated the protein expression of PCNA, MMP-9, and VEGFA in endothelial cells.

(3) Prunetin improves cardiac function in mice after myocardial infarction by activating the expression of EGFR/PI3K/AKT signaling pathway. Network pharmacology analysis revealed 68 common targets between Prunetin and myocardial infarction. Molecular docking analysis showed that Prunetin was highly affinity to the target protein epidermal growth factor (EGFR). Enrichment analysis suggested that Prunetin may ameliorate myocardial infarction by modulating the EGFR/PI3K/AKT signaling pathway. Subsequently, the expression levels of EGFR, PI3K, AKT, p-PI3K, and p-AKT proteins were examined by Western Blot in an in vitro model, and the results showed that the Prunetin-treated group could promote a significant up-regulation of EGFR, p-PI3K, and p-AKT proteins, whereas the levels of PI3K and AKT proteins were not significantly altered, as compared with the endothelial cells after oxygen sugar deprivation.

Conclusion : After myocardial infarction, the decline of endothelial cell activity, proliferation and migration ability, which in turn affects angiogenesis; Prunetin stimulates EGFR, activates the EGFR signaling axis, triggers the up-regulation of the phosphorylation level of the PI3K/AKT signaling pathway, promotes the DNA synthesis and transcription, and stimulates the endothelial cell proliferation, migration, and tubuloids formation, thus promoting the role of angiogenesis and attenuating the damage of myocardial infarction, and improving the cardiac function.

Key words: Prunetin; Myocardial Infarctat; Endothelial Cells; Network Pharmacology

Study Type: A (Basic Research)

目录

摘要.....	I
ABSTRACT.....	III
目录.....	VI
中英文缩略词表.....	IX
第1章 前言.....	1
第2章 材料与方法.....	3
2.1 材料与仪器设备.....	3
2.1.1 主要实验试剂.....	3
2.1.2 主要实验耗材.....	5
2.1.3 主要实验仪器.....	5
2.1.4 主要溶液配制.....	6
2.2 实验方法.....	7
2.2.1 动物实验分组及给药.....	7
2.2.2 小鼠心肌梗死模型的制备.....	8
2.2.3 小鼠超声心动图心功能检测.....	9
2.2.4 TTC 染色检测心肌梗死面积.....	9
2.2.5 小鼠血清内心肌损伤标志物水平测定.....	9
2.2.6 石蜡切片制作.....	10
2.2.7 苏木素-伊红（H&E）染色观察各组心脏形态结构变化.....	11
2.2.8 马松（Masson）染色检测心肌梗死面积.....	11
2.2.9 免疫组织化学染色检测小鼠心肌组织血管数目.....	12
2.2.10 免疫荧光染色检测小鼠心脏组织血管数目.....	13
2.2.11 WGA, IB4 染色检测小鼠心肌组织血管数目.....	13
2.2.12 酶联免疫吸附实验（ELISA）检测血管内皮生长因子含量.....	13
2.2.13 细胞实验分组设计.....	14
2.2.14 细胞复苏.....	15
2.2.15 细胞传代.....	15
2.2.16 细胞冻存.....	16
2.2.17 细胞计数.....	16
2.2.18 内皮细胞氧糖剥夺（OGD）模型的构建.....	17
2.2.19 管形成实验检测樱黄素对缺氧内皮细胞成管能力的影响.....	17

2.2.20 CCK-8 实验	18
2.2.21 EDU 实验检测樱黄素对缺氧内皮细胞增殖能力的影响.....	19
2.2.22 划痕实验检测樱黄素对内皮细胞横向迁移能力的影响.....	20
2.2.23 Transwell 实验检测樱黄素对缺氧内皮细胞纵向迁移能力的影响.....	20
2.2.24 内皮细胞蛋白的提取.....	21
2.2.25 BCA 蛋白定量及蛋白质变性.....	21
2.2.26 Western Blotting 实验.....	21
2.3 网络药理学分析	24
2.3.1 网络药理学预测樱黄素与心肌梗死的共同靶点.....	24
2.3.2 构建蛋白质-蛋白质相互作用网络及筛选核心靶标.....	24
2.3.3 GO 动态富集分析和 KEGG 动态富集分析.....	24
2.3.4 分子对接.....	25
2.3.5 实验验证核心靶点和信号通路.....	25
2.4 统计学分析	25
第 3 章 实验结果.....	26
3.1 动物实验结果	26
3.1.1 实验动物情况.....	26
3.1.2 心肌梗死模型的制备.....	26
3.1.3 樱黄素对心肌梗死小鼠体重和心脏量/体重值的影响.....	27
3.1.4 樱黄素对心肌梗死小鼠心肌损伤酶的影响.....	27
3.1.5 樱黄素对心肌梗死小鼠心功能的影响.....	28
3.1.6 樱黄素对心肌梗死小鼠心脏组织形态结构的影响.....	29
3.1.7 樱黄素对心肌梗死小鼠心脏组织纤维化的影响.....	30
3.1.8 免疫荧光检测樱黄素对心肌梗死小鼠心脏组织中 CD31 水平的影响.....	31
3.1.9 免疫组化检测樱黄素对心肌梗死小鼠心脏组织中 CD31 水平的影响.....	32
3.1.10 IB4, WGA 染色检测樱黄素对心肌梗死小鼠心脏组织内血管生成的影响.....	33
3.1.11 樱黄素对心肌梗死后小鼠血清内 VEGF 水平的影响.....	34
3.2 细胞实验结果	34
3.2.1 CCK-8 实验检测氧糖剥夺对内皮细胞存活率的影响.....	34
3.2.2 CCK-8 实验检测樱黄素对内皮细胞活性的影响.....	35
3.2.3 CCK-8 实验检测樱黄素对氧糖剥夺后内皮细胞增殖能力的影响.....	36
3.2.4 EDU 染色检测樱黄素对氧糖剥夺后损伤内皮细胞增殖能力的影响.....	37
3.2.5 划痕实验检测樱黄素对内皮细胞横向迁移能力的影响.....	38

3.2.6 Transwell 实验检测樱黄素对氧糖剥夺后内皮细胞纵向迁移能力的影响 ..	39
3.2.7 成管实验检测樱黄素对氧糖剥夺后内皮细胞管样形成能力的影响	40
3.2.8 Western blot 检测樱黄素对氧糖剥夺损伤内皮细胞增殖、迁移、血管生成 相关蛋白表达的影响	42
3.3 网络药理学分析结果	43
3.3.1 樱黄素与心肌梗死作用靶点的筛选	43
3.3.2 樱黄素-心肌梗死共同靶点的 PPI 蛋白互作分析	43
3.3.3 GO 富集分析和 KEGG 通路富集分析	45
3.3.4 分子对接验证	46
3.4 蛋白免疫印迹实验对通路的验证结果	47
3.4.1 樱黄素对缺氧损伤后内皮细胞 EGFR 以及 PI3K/AKT 蛋白表达的影响 ..	47
第 4 章 讨论	49
第 5 章 结论与展望	54
5.1 结论	54
5.2 展望及不足之处	54
文献综述	55
参考文献	61
致谢	70

中英文缩略词表

英文缩写	英文全称	中文全称
Acr	Acrylamide	丙烯酰胺
AKT	Adams-Karas-Taylor	苏氨酸蛋白激酶
AP	Ammonium Persulfate	过硫酸铵
β -actin	β -actin	β 肌动蛋白
BP	Biological process	生物学过程
BSA	Bovine serum albumin	牛血清白蛋白
cAMP	Cyclic Adenosine Monophosphate	环磷酸腺苷
CCK-8	CellCountingKit-8	细胞计数试剂盒
CD31	Platelet endothelial cell adhesion molecule	血小板内皮细胞黏附分子
CK-MB	Creatine Kinase-MB	肌酸激酶同工酶 MB
cTn-I	cardiac troponin I	心肌肌钙蛋白 I
DAPI	4',6-diamidino-2-phenylindole	4',6-二脒基-2-苯基吲哚
DMEM	Dulbecco's modification of Eagle's medium Dulbecco	含葡萄糖培养基
DMSO	Dimethyl sulfoxide	二甲基亚砷
EDU	5-Ethynyl-2'-deoxyuridine	5-乙炔基-2-脱氧尿苷
FBS	Fatal bovine serun	胎牛血清
GO	Gene Ontology	基因本体论
H ₂ O ₂	Hydrogen peroxide	过氧化氢
HE	Hematoxylin and eosin	苏木素-伊红
HUVEC	Human Umbilical Vein Endothelial Cell	人脐静脉内皮细胞
IB4	Isolectin B4	植物凝集素 IB4
KD	Kilodalton	千道尔顿
KEGG	Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes	京都基因组百科全书
LVEF	Left Ventricular Ejection Fraction	左心室射血分数
LVFS	Left Ventricular Fractional Shortening	左心室短轴缩短率
MI	Myocardial infarct	心肌梗死
MMP-9	Matrix Metalloproteinase-9	基质金属蛋白酶-9
OD	Optical Density	光密度
PBS	Phosphate buffered solution	磷酸盐缓冲液

英文缩写	英文全称	中文全称
PCNA	Proliferating Cell Nuclear Antigen	增殖细胞核抗原
PI3K	Phosphoinositide 3-kinase	磷酸酰肌醇激酶
PMSF	Phenylmethanesulfonyl fluoride	苯甲磺酰氟
Pru	Prunetin	樱黄素
PVDF	Polyvinylidene fluoride	聚偏二氟乙烯膜
RIPA	Radio-Immunoprecipitation Assay	细胞裂解液
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate	十二烷基硫酸钠
TBST	Tris Buffered Saline and Tween 20	含吐温的 Tris 缓冲盐水
TEMED	Tetramethylethylenediamine	四甲基乙二胺
Tris	Tris(Hydroxymethyl)Aminomethane Hydrochloride	三羟甲基氨基甲烷
Tween-20	Polyethylene glycol sorbitan monolaurate	吐温-20
VEGF	Vascular endothelial growth factor	血管内皮生长因子
WB	Western Blot	蛋白免疫印迹实验
WGA	Wheat germ agglutinin	小麦胚芽凝集素

第 1 章 前言

据研究数据统计，心血管疾病在全球总死亡人口中占比大于 30%，且发病率与致死率仍在逐年攀升^[1]。心肌梗死（MI）是心血管疾病中最常见的死亡原因之一^[2]，对人类健康构成重大风险。心肌梗死是由于冠状动脉硬化斑块破裂和血栓引起的冠状动脉阻塞，造成局部心肌组织持续缺血缺氧^[3]。目前常见的治疗手段包括冠状动脉介入术和溶栓治疗，虽然这些治疗手段显著降低了死亡率，但常规治疗手段在恢复冠状动脉血流的同时会对心肌造成二次损伤^[4]。因此寻求更安全有效的疗法来减轻心肌梗死导致的心功能损伤是目前亟待解决的问题。

近年来，国内外对心肌梗死的治疗研究主要包括调控炎症反应、抗细胞凋亡、抑制心肌纤维化和促进血管生成等^[5-7]。经研究发现心肌梗死发生后小鼠的心脏建立新生侧支动脉，这一发现在大鼠心肌梗死模型上也得到了相同的验证^[8-11]。在心肌梗死后梗死区的血管崩解、基质降解、内皮细胞增殖、迁移、管道化形成血管环以及形成新的基底膜，在预先存在的血管结构上，经以上一系列过程发展产生新的血管^[12, 13]。血管生成在心肌梗死后的初期可以促进受损伤血管的修复和心肌组织灌注的增加，使心肌的病理损伤减缓，避免心室重塑从而预防心肌梗死后的心力衰竭^[14]，是目前效果显著的治疗手段^[15]。

研究人员就如何刺激血管新生开展了大量研究，发现低氧环境、干细胞、细胞外泌体都可以改善心肌梗死后心脏功能^[16-20]，并促进心肌梗死区域血管新生，但以上疗法均存在着局限性，低氧刺激将影响正常细胞的能量供应^[21]、干细胞移植的存活率低且易发生排异反应^[22]、部分外泌体治疗将刺激免疫细胞活化，导致炎症反应且没有足够的临床试验支持^[23]。因此仍需探究更为完善的刺激手段促进血管的生成。

传统中草药对心血管的治疗保护作用不容忽视。中草药内包含多种活性成分，不同活性成分刺激的蛋白靶点各异，且不同靶点相互作用形成互作网络共同调控血管系统^[24]。越来越多的研究证实，许多中药可促进心肌梗死后血管生成^[25]。其中复方中药养心通脉和活血益气方都被证明能促进心肌缺血组织血管的生成^[26, 27]。虽然传统中药在治疗心肌梗死促进血管生成方面已显示出巨大的潜力，但目前研究的复方中药成分复杂，治疗周期较长且存在不可避免的副作用^[28]。在此基础上若能找到高效单体化合物将有效降低副作用，提高利用率。因此，本研究旨在找到其他有效的小分子化合物刺激血管新生来改善心肌梗死损伤。

在众多中草药中发现一种活性成分樱黄素，能在红花、李子、鸡血藤内提取得到的天然植物激素^[29]。经研究，它具有减轻炎症、减轻应激和控制蛋白水解活性^[30]。近

年来有报道称樱黄素对保护软骨^[31]作用显著并可促进大鼠成骨细胞的增殖和分化，与G蛋白偶联受体结合，提高成骨细胞中cAMP的表达水平^[32]，并表明其可调节AMPK信号通路活性，并对异丙肾上腺素诱导的大鼠心肌损伤模型有治疗作用，但研究者并未探究具体机制^[33]，但根据相关研究进展可预测其心脏损伤具有一定的保护作用。

因此，根据既往研究进展提出假设：樱黄素能否促进内皮细胞的增殖、迁移进而改善心肌梗死后小鼠的心功能？在本研究中，采用左前降支动脉结扎的手术造模方式建立小鼠心肌梗死模型，应用超声心动图、苏木精-伊红染色、马松染色、免疫组化、免疫荧光、IB4染色等实验方法，探究樱黄素对心肌梗死小鼠的心功能的作用，以及对心肌梗死后血管新生的作用；在细胞水平，缺氧培养内皮细胞诱导产生内皮细胞损伤模型，运用CCK-8、EDU、划痕、Transwell、管样形成、蛋白免疫印迹等实验方法，阐明樱黄素对内皮细胞增殖、迁移、血管生成的影响，并结合网络药理学、分子对接，分析樱黄素治疗心肌梗死的作用机制。以上对于推动临床用药领域的进步具有极其重要的意义，也为心肌梗死的治疗提供了坚实的理论依据。