

参附芎泽方通过 AMPK/mTOR 信号通路调控自噬水平干预 心肌重构大鼠的作用机制

王雪晴¹, 钟伟², 潘亮亮¹, 李彩红², 韩曼¹, 杨晓薇¹, 于远望^{1*}

(1. 陕西中医药大学基础医学院, 陕西 咸阳 712000;

2. 陕西中医药大学第二附属医院, 陕西 咸阳 712000)

[摘要] 目的:探究参附芎泽方通过腺苷酸活化蛋白激酶/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(AMPK/mTOR)信号通路调控心肌重构大鼠自噬的作用机制。方法:以异丙肾上腺素(ISO)诱导心肌重构大鼠模型,实验分为空白组、模型组、参附芎泽方低、中、高组和卡托普利组,每组6只。除空白组外,其余各组均采用腹腔注射ISO 2.5 mg·kg⁻¹连续3周构建心肌重构大鼠模型。参附芎泽方低、中、高组造模同时灌胃相应剂量参附芎泽方溶液(8.4、16.8、33.6 g·kg⁻¹),卡托普利组同时灌胃卡托普利溶液(25 mg·kg⁻¹),空白组和模型组给予等容积生理盐水,连续处理3周。采用超声心动图观察心脏结构和功能;检测心质量指数;苏木素-伊红(HE)、马松(Masson)染色观察心肌组织病理形态学改变;酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测血清白细胞介素-6(IL-6)、B型钠尿肽(BNP)水平;免疫组化测定心肌组织I型胶原(Collagen I)、III型胶原(Collagen III)、微管相关蛋白1轻链3(LC3)蛋白表达;透射电镜观察自噬情况;实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测心肌组织Collagen I、Collagen III、 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)、LC3、酵母Atg6同源蛋白(Beclin-1)、AMPK、mTOR mRNA表达;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测心肌组织Collagen I、 α -SMA、转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)、LC3、Beclin-1、p62、磷酸化(p)-AMPK、p-mTOR、AMPK、mTOR蛋白的表达。结果:与正常组比较,模型组大鼠射血分数(EF)、左室短轴缩短率(FS)值显著降低($P<0.01$),左心室舒张末期内径(LVIDd)、左心室收缩末期内径(LVIDs)值显著升高($P<0.01$),心肌组织炎症浸润及纤维化程度增加,血清IL-6、BNP水平显著升高($P<0.01$),Collagen I、Collagen III、 α -SMA、mTOR mRNA及蛋白水平显著升高($P<0.01$),LC3、Beclin-1、AMPK mRNA及蛋白水平明显降低($P<0.05$, $P<0.01$);与模型组比较,参附芎泽方各组EF、FS值显著升高($P<0.01$),LVIDd、LVIDs值降低($P<0.05$),心肌组织炎症及纤维化均显著减轻,血清IL-6、BNP水平降低($P<0.01$),Collagen I、 α -SMA、TGF- β_1 、p62和p-mTOR蛋白表达水平显著降低($P<0.01$),Collagen I、Collagen III、 α -SMA和mTOR mRNA水平显著降低($P<0.01$),LC3、Beclin-1、AMPK mRNA及蛋白水平明显升高($P<0.05$, $P<0.01$)。结论:参附芎泽方能够通过调控自噬水平改善ISO诱导的大鼠心肌重构,改善心功能、炎症和纤维化水平,该作用可能是通过AMPK/mTOR信号通路来实现的。

[关键词] 参附芎泽方; 心肌重构; 自噬; 心力衰竭; 异丙肾上腺素

[中图分类号] R282;R285;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2026)02-0136-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20250939

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20250507.1456.003>

[网络出版日期] 2025-05-07 16:01:12



Mechanism of Shenfu Xiongze Prescription in Regulating Autophagy Level to Intervene in Myocardial Remodeling in Rats via AMPK/mTOR Signaling Pathway

WANG Xueqing¹, ZHONG Wei², PAN Liangliang¹, LI Caihong², HAN Man¹,
YANG Xiaowei¹, YU Yuanwang^{1*}

(1. School of Basic Medical Sciences, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712000, China;

2. Second Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712000, China)

[收稿日期] 2025-01-10

[基金项目] 陕西省科技厅自然科学基金基础研究计划项目(2023-JC-QN-0975, 2023-JC-YB-726);咸阳市重点研发计划项目(L2022ZDYFSF015);陕西省教育厅项目(20JK0589);陕西省中西医结合心血管病防治重点实验室项目(303-1730202030)

[第一作者] 王雪晴,在读硕士,从事中医药防治心血管疾病的基础研究,E-mail:1580632757@qq.com

[通信作者] *于远望,教授,从事中医药防治心血管疾病的基础研究,E-mail:59305302@qq.com

[Abstract] **Objective:** To explore the mechanism by which the Shenfu Xiongze prescription regulates autophagy in rats with myocardial remodeling through the adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK)/mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway. **Methods:** A rat model of myocardial remodeling induced by isoprenaline (ISO) was established. Rats were divided into the blank group, the model group, the low-, medium-, and high-dose groups of Shenfu Xiongze prescription, and the captopril group, 6 rats in each group. Except for the blank group, the rat model of myocardial remodeling was established in the other groups by intraperitoneal injection of 2.5 mg·kg⁻¹ ISO for 3 consecutive weeks. At the same time of modeling, the low-, medium-, and high-dose groups of Shenfu Xiongze prescription were administered the corresponding doses of Shenfu Xiongze prescription solution (8.4, 16.8, and 33.6 g·kg⁻¹), and the captopril group was administered captopril solution (25 mg·kg⁻¹). As for the blank group and the model group, the same volume of normal saline was given. The treatment was continued for 3 weeks. Echocardiography was used to observe the cardiac structure and function, and the heart weight index was detected. Masson staining and hematoxylin-eosin (HE) staining were used to observe the pathological morphology changes of myocardial tissue. The levels of interleukin-6 (IL-6) and B-type natriuretic peptide (BNP) in serum were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The expression of type I collagen (Collagen I), type III collagen (Collagen III), and microtubule-associated protein 1 light chain 3 (LC3) proteins in myocardial tissue was determined by immunohistochemistry. Autophagy was observed by transmission electron microscopy. The mRNA expression of Collagen I, Collagen III, α -smooth muscle actin (α -SMA), LC3, yeast Atg6 homolog protein (Beclin-1), AMPK, and mTOR in myocardial tissue was detected by quantitative real-time polymerase chain reaction (real-time PCR). The protein expression of Collagen I, α -SMA, transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1), LC3, Beclin-1, p62, phosphorylation (p)-AMPK, p-mTOR, AMPK, and mTOR was detected by Western blot. **Results:** Compared with the normal group, rats in the model group exhibited significantly decreased values of ejection fraction (EF) and left ventricular fractional shortening (FS) ($P<0.01$), significantly increased values of left ventricular end-diastolic diameter (LVIDd) and left ventricular end-systolic diameter (LVIDs) ($P<0.01$). Additionally, the model group also showed increased degrees of inflammatory infiltration and fibrosis of myocardial tissue, significantly elevated levels of serum IL-6 and BNP ($P<0.01$), significantly increased mRNA and protein levels of Collagen I, Collagen III, α -SMA, and mTOR ($P<0.01$), and markedly decreased mRNA and protein levels of LC3, Beclin-1, and AMPK ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with the model group, the low-, medium-, and high-dose groups of Shenfu Xiongze prescription presented significantly elevated EF and FS values ($P<0.01$) and lowered LVIDd and LVIDs ($P<0.05$). In these groups, the inflammation and fibrosis were alleviated significantly. They also exhibited decreased serum levels of IL-6 and BNP ($P<0.01$), significantly reduced protein expression of Collagen I, α -SMA, TGF- β_1 , p62, and p-mTOR ($P<0.01$), significantly decreased mRNA expression of Collagen I, Collagen III, α -SMA, and mTOR ($P<0.01$), and significantly increased mRNA and protein levels of LC3, Beclin-1, and AMPK ($P<0.05$, $P<0.01$). **Conclusion:** The Shenfu Xiongze prescription can improve the myocardial remodeling induced by ISO in rats by regulating the autophagy level, enhance cardiac function, and reduce inflammatory and fibrotic levels. This effect may be achieved through the AMPK/mTOR signaling pathway.

[Keywords] Shenfu Xiongze prescription; myocardial remodeling; autophagy; heart failure; isoprenaline

心力衰竭是各种心血管疾病的终末阶段,具有发病率高、死亡率高等特点,占中国人口死亡人数的40%^[1]。心力衰竭是心脏结构及其功能的异常改变所引起的一组复杂临床综合征,主要是以心脏泵出血量不足和(或)血液充盈能力下降为特征,进而引起肺循环和(或)体循环瘀血,诱发呼吸困难等,最终导致死亡^[2]。而心肌重构是心衰病变的基本机制,由于心肌缺血或血液动力学紊乱诱发心肌肥大,导致心脏形态和室壁僵硬度的改变和功能变化,其病理表现以心肌细胞肥大、心肌细胞凋亡或坏死、间质纤维化、间质炎细胞浸润水肿为主要特征,是心血管疾病发生发展的基本机制^[3]。临床对于病理性心肌重构的治疗手段也十分有限,常用的包括血管紧张素转化酶抑制剂(ACEI)、 β 受体阻滞剂、血管紧张素受体-脑啡肽酶抑制剂(ARNI)、钠-葡萄糖协同转运蛋白2抑制剂(SGLT2)抑制剂等药

物,但是这些治疗手段需要同时服用多种药物,这既增加了经济负担,降低了依从性,同时增加了不良反应和药物相互作用的发生率,预后不佳等问题^[4]。近年来越来越多的研究发现中医药在治疗心力衰竭等心血管疾病中具有疗效好、多靶点、多通路、不良反应少等优势^[5]。

参附芎泽方由人参、附子、黄芪、川芎、泽泻、丹参6味药组成,具有温阳利水、益气活血之效,是由国医大师张学文教授在千古名方参附汤的基础上,并结合多年临床治疗心力衰竭的经验的基础上所创。课题组前期发现,参附芎泽方在临床治疗心力衰竭等疾病效果显著,能够显著改善心力衰竭患者心功能等。并且研究发现,参附芎泽方可抑制炎症反应和肾素-血管紧张素-醛固酮(RASS)系统的激活,改善心力衰竭大鼠心肌能量代谢并减轻心肌组织病理损伤,同时能改善心力衰竭大鼠心功能和

血流动力学作用^[6-7],但其具体作用机制尚未阐明。

自噬是一种细胞内降解机制,通过降解受损细胞器和蛋白质来维持细胞稳态,研究发现,在心肌重构中,自噬可以通过清除受损的线粒体和异常蛋白质,为心肌细胞提供能量,改善心肌细胞的缺血缺氧状态,抑制心肌重构,从而发挥保护作用,改善心功能^[8]。研究发现,腺苷酸活化蛋白激酶/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(AMPK/mTOR)信号通路是调控自噬的关键通路,该通路可以通过促进心肌细胞的自噬,清除受损的线粒体和蛋白质,调节心肌自噬流,维持心肌细胞的能量代谢和功能,减轻心肌损伤,有效改善心肌重构^[9],且近年来在中医药通过调控自噬来治疗心肌重构方面进展显著^[10]。异丙肾上腺素(ISO)是一种 β -肾上腺素能受体激动剂,它通过激活 β_1 -肾上腺素能受体,增强心肌收缩力和增加心率并扩张血管,诱导心律失常,导致心肌细胞损伤、心肌纤维化和心肌重构^[11]。因此本实验通过腹腔注射ISO诱导心肌重构大鼠模型,探究参附芎泽方是否通过AMPK/mTOR信号通路调控心肌重构大鼠自噬及其具体的作用机制,以期为临床应用提供理论依据。

1 材料

1.1 动物 SPF级雄性SD大鼠36只,体质量200~250 g,成都达硕实验动物有限公司提供,动物生产合格证号SCXK(川)-2020-0030。大鼠按照SPF级标准分笼饲养,恒温(20~22℃),湿度50%~60%,昼夜明暗交替时间12 h/12 h,自由饮水、饮食,适应性喂养1周后开始实验。

1.2 伦理 动物实验由陕西中医药大学动物伦理审批会批准,审批号SUCMDL20240118002。

1.3 药物与试剂 参附芎泽方由人参、附子、黄芪、川芎、泽泻、丹参(江阴天江药业有限公司,批号分别为2304151301、2302535301、2301665601、2302368301、2303499301、2307140301)6味药组成,以上中药配方颗粒购于陕西中医药大学附属医院。ISO(美国Sigma公司,批号102498411);卡托普利(常州制药厂有限公司,批号21102513);B型钠尿肽(BNP)、白细胞介素-6(IL-6)酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒(武汉伊莱瑞特有限公司,批号分别为E-EL-R0126、E-EL-R0015);山羊抗小鼠免疫球蛋白G、山羊抗兔免疫球蛋白G(西安壮志生物科技有限公司,批号分别为EK010、EK020); α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)、转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)、磷酸化哺乳动物雷帕

霉素靶蛋白(p-mTOR)抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,批号分别为14395-1-AP、21898-1-AP、60004-1-Ig、67778-1-Ig);微管相关蛋白1轻链3A/B(LC3A/B)抗体(美国CST公司,批号12741);螯合体1(p62)、磷酸化腺苷酸活化蛋白激酶(p-AMPK)抗体(美国Abcam公司,批号分别为EPR4844、EPR5683);马松(Masson)染色、苏木素-伊红(HE)染色试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为D026-1、D019-1)。

1.4 仪器 D6 LAB型小动物超声仪(苏州飞依诺科技股份有限公司);JC-1200MB型酶标仪(美国Biotech公司);Micro17R型4℃高速离心机、QuantStudio 3型实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)仪(美国Thermo公司);KD-TS1A型生物组织脱水机(宁波科迪生物科技有限公司);BM-IX型石蜡包埋机(孝感市宏业医用仪器有限公司);Taiva轮转型切片仪(德国Leica公司);CKX53型光学显微镜(日本Olympus公司);BG-AUTO型发光成像仪(上海贝晶生物技术有限公司)。

2 方法

2.1 模型复制 采用大鼠腹腔注射ISO,首次剂量为5 mg·kg⁻¹·d⁻¹,后以2.5 mg·kg⁻¹·d⁻¹,重复给药持续3周,诱导心肌重构模型^[12-13]。

2.2 分组及给药 SD大鼠适应性喂养1周,36只大鼠按照随机数表法分为6组,分别为空白组,模型组,参附芎泽方低、中、高剂量组和卡托普利组。按大鼠单位体质量剂量换算给药等效剂量,大鼠等效剂量相当于人的6.3倍,以人体质量70 kg为标准,大鼠等效剂量为8.4 g·kg⁻¹,即为参附芎泽方低剂量组灌胃;参附芎泽方低、中、高剂量组大鼠在造模同时灌胃相应剂量参附芎泽方水溶液(8.4、16.8、33.6 g·kg⁻¹),卡托普利组在造模同时灌胃卡托普利溶液(25 mg·kg⁻¹)。空白组和模型组大鼠给予等体积生理盐水灌胃,各组灌胃容积均为10 mL·kg⁻¹,持续3周。

2.3 取材及标本处理 造模3周后,称取大鼠体质量后于3%戊巴比妥钠(40 mg·kg⁻¹)麻醉后进行腹主动脉取血,取出全心组织,生理盐水清洗后,修剪多余组织,称质量并计算心质量指数。

2.4 超声心动图检测心功能 造模3周后,用1%~2%的异氟烷吸入麻醉小鼠并固定在超声仪上,用脱毛膏除去心前区皮毛,使用耦合剂使探头与皮肤之间紧密接触。通过小动物超声仪进行检测,以评估心脏功能。

2.5 心脏组织病理学分析 心脏取材后置于多聚甲醛中固定后进行石蜡包埋,石蜡切片后,根据试剂盒说明书进行HE和Masson染色。

2.6 ELISA检测血清BNP和IL-6水平 按照ELISA说明书,加入样本和相应试剂,操作结束后使用酶标仪检测各孔的吸光度A,通过标准曲线得到相应浓度并计算。

2.7 免疫组化检测心肌组织I型胶原(Collagen I)、III型胶原(Collagen III)、LC3蛋白表达 心肌组织切片经二甲苯脱蜡、抗原修复、封闭非特异性结合点后,加入Collagen I、Collagen III、LC3(1:500、1:500、1:100)抗体4℃中孵育过夜;TBST洗3次(每次5 min),加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗(1:5 000)室温孵育60 min;显色并用苏木素复染细胞核,梯度乙醇脱水并封片。最后置于镜检,阳性表达呈棕黄色。

2.8 透射电镜检测心肌组织自噬情况 取左心室组织,经电镜固定液固定,制备为超薄切片,在透射电镜下观察自噬情况。

2.9 Real-time PCR检测Collagen I、Collagen III、 α -SMA、LC3、酵母Atg6同源蛋白(Beclin-1)、AMPK、mTOR mRNA表达水平 采用快速提取试剂盒提取组织RNA,测定RNA的纯度和浓度并反转录成cDNA。按照PCR试剂盒进行,反应条件:95℃预变性10 min;95℃变性10 s;60℃退火10 s;72℃延伸30 s;共40个循环。以 β -肌动蛋白(β -actin)为内参,通过目的基因片段扩增曲线。数据统计,以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行定量分析。引物由生工生物工程(上海)有限公司合成,引物序列见表1。

2.10 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测心肌组织自噬及相关通路蛋白表达 称取适量心肌组织并加入RIPA裂解液后研磨(-50℃,60 Hz,20 min),静置30 min后取上清;BCA法测蛋白浓度后,加上样缓冲液,十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离蛋白,转移至NC膜,5%牛奶封闭后孵育一抗,TGF- β_1 (1:1 000)、 α -SMA(1:1 000)、LC3(1:400)、Beclin-1(1:1 000)、GAPDH(1:5 000),TBST清洗后二抗(1:5 000)孵育,TBST清洗后置于化学发光成像系统上进行图像扫描。采用Image J软件分析条带灰度值,以目的蛋白与内参蛋白条带灰度值的比值代表目的蛋白相对表达量。

2.11 统计学分析 采用GraphPad Prism 10软件进行统计分析,并用 $\bar{x} \pm s$ 进行统计学描述。多组间数据比较采用单因素方差分析,两两比较采用最小显著性

表1 引物序列

Table 1 Primer sequences

引物	序列(5'-3')	长度/bp
Collagen I	上游 CCTGGCAACCCTGGAACAAATG	106
	下游 AAGTCCTCTGGCACCTGTAGG	
Collagen III	上游 AGTCGGAGGAATGGGTGGCTATC	113
	下游 CAGGAGATCCAGGATGTCCAGAGG	
α -SMA	上游 ATCAGGGAGTAATGGTTGGAATGGG	106
	下游 GAGTTGGTGATGATGCCGTGTTC	
LC3	上游 AGCCTTCTTCCTCCTGGTGAATGG	130
	下游 AGTGCTGTCCGAACGTCTCC	
Beclin-1	上游 TCAAGATCCTGGACCGAGTGACC	201
	下游 CTCCTCTCCTGAGTTAGCCTCTTCC	
AMPK	上游 CCCACAGAAATCCAAACACCAAGG	150
	下游 GTCCAACCTGCTTGATTGCTCTACAC	
mTOR	上游 GGCAGGACGAGCGAGTGATG	145
	下游 CCGAGTTGGTGGACAGAGGAATG	
β -actin	上游 TCAGGTCATCACGATCGAGC	134
	下游 AAAGAAAGGGTGTAACGCA	

差异法(LSD)检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 大鼠一般行为学 空白组大鼠活动、饮食及精神状态正常;模型组大鼠普遍出现精神不佳、活动减少、食欲不振、口唇发绀、蜷卧聚堆等症状;参附芎泽方各组 and 卡托普利组相较于模型组状态较好。

3.2 参附芎泽方对心肌重构大鼠心脏质量及心质量指数的影响 与空白组比较,模型组大鼠的心脏质量和心质量指数明显升高($P<0.05$, $P<0.01$);与模型组比较,参附芎泽方各组 and 卡托普利组大鼠心脏质量和心质量指数均显著降低($P<0.01$)。见表2。

表2 参附芎泽方对大鼠心脏质量及心质量指数的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 2 Effect of Shenfu Xiongze prescription on cardiac mass and cardiac weight index in rats ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

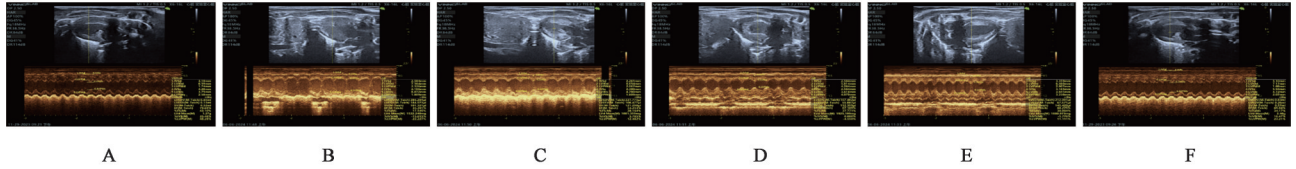
组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	心脏质量/g	心质量指数/%
空白组		1.28 \pm 0.07	3.38 \pm 0.14
模型组		1.99 \pm 0.88 ²⁾	6.48 \pm 0.22 ¹⁾
参附芎泽方低剂量组	8.4	1.60 \pm 0.36 ⁴⁾	4.42 \pm 0.06 ⁴⁾
参附芎泽方中剂量组	16.8	1.67 \pm 0.06 ⁴⁾	4.47 \pm 0.09 ⁴⁾
参附芎泽方高剂量组	33.6	1.45 \pm 0.06 ⁴⁾	4.06 \pm 0.12 ⁴⁾
卡托普利组	0.025	1.50 \pm 0.03 ⁴⁾	4.23 \pm 0.05 ⁴⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$;与模型组比较³⁾ $P<0.05$,⁴⁾ $P<0.01$ (表3-表8同)

3.3 参附芎泽方对心肌重构大鼠超声心动图的影响 心脏超声心动图评价大鼠心功能,图1显示大

鼠M型超声图像,表3显示心脏超声心动图相关参数。结果显示,模型组相比空白组EF和FS值显著降低($P<0.01$),LVIDd和LVIDs均显著升高($P<0.01$),表示ISO腹腔注射诱导的心肌重构大鼠模型复制成功,心室壁增厚,心功能降低;与模型组

比较,参附芎泽方各组与卡托普利组EF和FS值显著升高($P<0.01$),参附芎泽方低剂量组LVIDd显著降低($P<0.01$),参附芎泽方高剂量组和卡托普利组LVIDs降低($P<0.01$),提示参附芎泽方可以改善大鼠心肌重构和心功能。



注:A.空白组;B.模型组;C-F.参附芎泽方低、中、高剂量组;F.卡托普利组(图2、图3、图5、图6同)

图1 参附芎泽方对大鼠超声心动图的影响

Fig. 1 Effect of Shenfu Xiongze prescription on echocardiographic findings of rats

表3 参附芎泽方对大鼠超声心动图参数的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 3 Effect of Shenfu Xiongze prescription on echocardiographic parameters of rats ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	EF/%	FS/%	LVIDd/mm	LVIDs/mm
空白组		80.65±0.56	44.10±0.56	5.41±0.29	3.75±0.15
模型组		43.20±2.74 ²⁾	21.94±1.56 ²⁾	6.92±0.27 ²⁾	5.40±0.22 ²⁾
参附芎泽方低剂量组	8.4	56.21±1.52 ⁴⁾	28.47±0.52 ⁴⁾	5.80±0.24 ⁴⁾	4.41±0.20
参附芎泽方中剂量组	16.8	63.58±1.96 ⁴⁾	33.76±1.50 ⁴⁾	6.16±0.36	4.53±0.23
参附芎泽方高剂量组	33.6	67.59±0.93 ⁴⁾	35.61±1.63 ⁴⁾	6.50±0.17	4.16±0.43 ⁴⁾
卡托普利组	0.025	68.55±0.89 ⁴⁾	36.43±1.66 ⁴⁾	5.84±0.27	4.16±0.33 ⁴⁾

3.4 参附芎泽方对心肌重构大鼠心肌组织病理的影响 HE染色结果显示,空白组心肌细胞排列整齐、胞质均匀,间质正常;模型组心肌细胞排列紊乱且边界不清,心肌纤维断裂,并可见大量炎症细胞

浸润;各治疗组心肌组织损伤明显减轻,仅有少量炎症细胞浸润。Masson染色结果显示,与空白组比较,模型组正常肌纤维组织减少,代之以胶原纤维沉积;治疗组胶原纤维沉积明显减少。见图2。

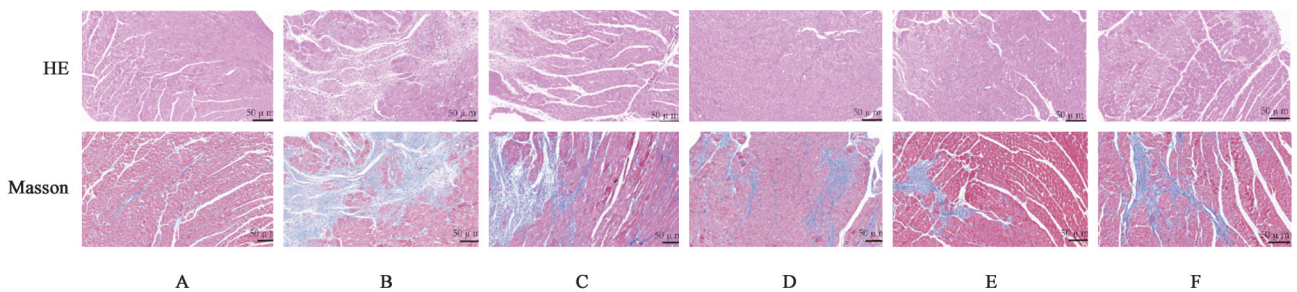


图2 参附芎泽方对心肌组织病理变化的影响($\times 200$)

Fig. 2 Effect of Shenfu Xiongze prescription on pathological changes of myocardial tissue ($\times 200$)

3.5 参附芎泽方对心肌重构大鼠血清BNP、IL-6含量的影响 与空白组比较,模型大鼠血清BNP、IL-6含量显著增高($P<0.01$);与模型组比较,参附芎泽方各组与卡托普利组大鼠血清BNP、IL-6含量均显著降低($P<0.01$)。见表4。

Collagen III蛋白阳性表达增多;与模型组比较,参附芎泽方各组与卡托普利组Collagen I、Collagen III蛋白阳性表达减少。见图3。

3.6 参附芎泽方对心肌重构大鼠心肌组织Collagen I、Collagen III的蛋白表达的影响 与空白组比较,模型组大鼠心肌组织Collagen I、

3.7 参附芎泽方对心肌重构大鼠心肌组织自噬水平变化的影响 透射电镜结果显示,空白组可见少量自噬泡,模型组较空白组的心肌组织自噬泡数量明显减少,参附芎泽方低、中、高剂量组较模型组心肌组织自噬泡数量显著增多。见图4。

表4 参附芎泽方对大鼠血清BNP、IL-6含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 4 Effect of Shenfu Xiongze prescription on contents of BNP and IL-6 in rat serum ($\bar{x} \pm s, n=6$) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	BNP	IL-6
空白组		137.20±2.96	92.67±3.14
模型组		1 467.00±183.10 ²⁾	1 309.00±288.40 ²⁾
参附芎泽方低剂量组	8.4	619.90±76.79 ⁴⁾	510.00±15.67 ⁴⁾
参附芎泽方中剂量组	16.8	483.00±56.07 ⁴⁾	420.40±52.66 ⁴⁾
参附芎泽方高剂量组	33.6	329.00±3.51 ⁴⁾	348.40±50.78 ⁴⁾
卡托普利组	0.025	364.60±10.97 ⁴⁾	406.30±34.04 ⁴⁾

3.8 参附芎泽方对大鼠心肌组织 Collagen I、Collagen III、 α -SMA mRNA 表达的影响 与空白组

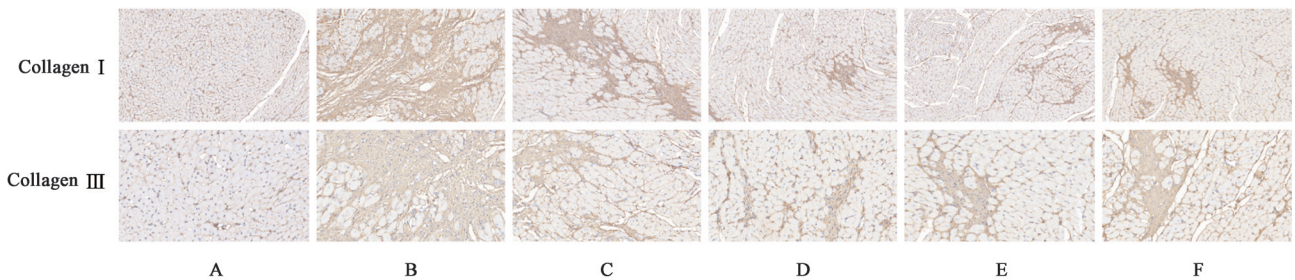


图3 参附芎泽方对心肌重构大鼠 Collagen I、Collagen III 蛋白表达影响 (免疫组化, ×400)

Fig. 3 Effect of Shenfu Xiongze prescription on expression of Collagen I, Collagen III and protein in rats with myocardial remodeling (IHC, ×400)

表5 参附芎泽方对大鼠心肌组织 Collagen I、Collagen III、 α -SMA mRNA 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 5 Effect of Shenfu Xiongze prescription on mRNA of Collagen I, Collagen III and α -SMA in myocardial tissue of rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	Collagen I	Collagen III	α -SMA
空白组		0.13±0.01	0.06±0.01	0.12±0.00
模型组		1.00±0.05 ²⁾	1.02±0.09 ²⁾	1.01±0.06 ²⁾
参附芎泽方低剂量组	8.4	0.58±0.03 ⁴⁾	0.54±0.03 ⁴⁾	0.65±0.02 ⁴⁾
参附芎泽方中剂量组	16.8	0.48±0.05 ⁴⁾	0.48±0.03 ⁴⁾	0.57±0.03 ⁴⁾
参附芎泽方高剂量组	33.6	0.24±0.04 ⁴⁾	0.35±0.05 ⁴⁾	0.30±0.03 ⁴⁾
卡托普利组	0.025	0.41±0.05 ⁴⁾	0.40±0.05 ⁴⁾	0.41±0.01 ⁴⁾

3.10 参附芎泽方对心肌重构大鼠心肌组织自噬相关指标和通路相关指标 mRNA 表达的影响 与空白组比较,模型组大鼠心肌组织 LC3、Beclin-1、AMPK mRNA 水平显著降低 ($P<0.01$), mTOR mRNA 水平显著升高 ($P<0.01$);与模型组比较,参附芎泽方各组 and 卡托普利组 LC3、Beclin-1、AMPK mRNA 水平明显升高 ($P<0.05, P<0.01$), mTOR mRNA 水平显著降低 ($P<0.01$)。见表7。

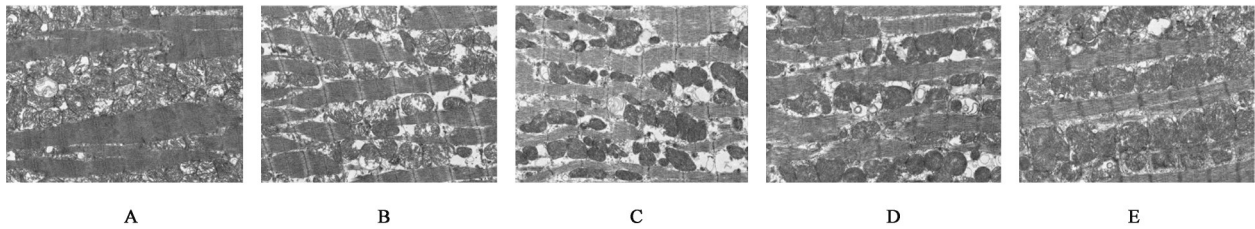
比较,模型组大鼠心肌组织 Collagen I、Collagen III、 α -SMA mRNA 表达水平显著升高,差异具有统计学意义 ($P<0.01$);与模型组比较,参附芎泽方各组 and 卡托普利组 Collagen I、Collagen III、 α -SMA mRNA 表达水平显著降低,差异具有统计学意义 ($P<0.01$)。见表5。

3.9 参附芎泽方对心肌重构大鼠心肌组织心肌重构相关指标 Collagen I、 α -SMA、TGF- β_1 蛋白表达水平的影响 与空白组比较,模型组大鼠心肌组织中 Collagen I、 α -SMA、TGF- β_1 蛋白表达水平显著升高 ($P<0.01$);与模型组比较,参附芎泽方各组 and 卡托普利组 Collagen I、 α -SMA、TGF- β_1 蛋白表达水平显著降低 ($P<0.01$)。见图5、表6。

3.11 参附芎泽方对心肌重构大鼠心肌组织自噬相关指标 LC3、p62、Beclin-1 和通路相关指标 AMPK、p-AMPK、mTOR、p-mTOR 蛋白表达的影响 与空白组比较,模型组大鼠心肌组织 LC3、Beclin-1、AMPK 蛋白水平明显降低 ($P<0.05, P<0.01$), p62、mTOR 蛋白水平显著升高 ($P<0.01$);与模型组比较,参附芎泽方各组 and 卡托普利组 LC3、Beclin-1、AMPK 蛋白水平明显升高 ($P<0.05, P<0.01$), p62、mTOR 蛋白水平显著降低 ($P<0.01$)。见图6、表8。

4 讨论

参附芎泽方由人参、附子、黄芪、川芎、泽泻、丹参6味药组成,具有温阳利水、益气活血的功效,是由国医大师张学文教授在千古名方参附汤的基础上,并结合多年临床治疗心力衰竭的经验的基础上所创,临床治疗心力衰竭疗效显著。心肌重构作为心力衰竭的病理基础,根据临床表现可归于中医“胸痹、喘证、心悸、水肿”等范畴,其病因病机复杂,多与心气虚、心阳虚、痰饮内阻、瘀血阻络等因素有关^[14]。参附芎泽方能够温阳益气、利水消肿、消痰化瘀,治疗时能够标本兼治,临床研究显示参附芎



注:A.空白组;B.模型组;C.参附芎泽方低剂量组;D.参附芎泽方中剂量组;E.参附芎泽方高剂量组

图4 参附芎泽方对大鼠心肌组织自噬水平的影响(透射电镜,×5 000)

Fig. 4 Effect of Shenfu Xiongzefang prescription on autophagy changes in myocardial tissue of rats(TEM, ×5 000)

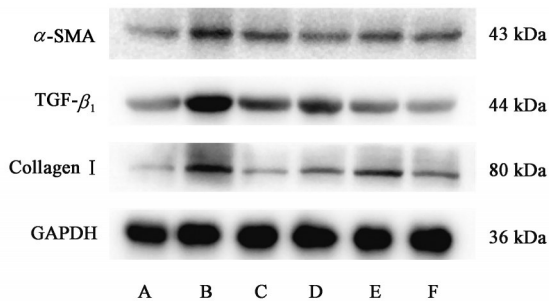


图5 大鼠心肌组织 Collagen I、 α -SMA、TGF- β_1 蛋白表达电泳

Fig. 5 Electrophoretic of Collagen I, α -SMA and TGF- β_1 protein expressions in rat myocardial tissues

表6 参附芎泽方对大鼠 Collagen I、 α -SMA、TGF- β_1 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 6 Effect of Shenfu Xiongzefang prescription on protein expression of Collagen I, α -SMA and TGF- β_1 in rats ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	Collagen I /GAPDH	α -SMA /GAPDH	TGF- β_1 /GAPDH
空白组		0.25±0.00	0.27±0.03	0.23±0.02
模型组		0.94±0.01 ²⁾	1.29±0.15 ²⁾	1.07±0.47 ²⁾
参附芎泽方低剂量组	8.4	0.53±0.03 ⁴⁾	0.62±0.04 ⁴⁾	0.54±0.03 ⁴⁾
参附芎泽方中剂量组	16.8	0.47±0.01 ⁴⁾	0.53±0.05 ⁴⁾	0.47±0.045 ⁴⁾
参附芎泽方高剂量组	33.6	0.43±0.01 ⁴⁾	0.50±0.03 ⁴⁾	0.33±0.02 ⁴⁾
卡托普利组	0.025	0.45±0.02 ⁴⁾	0.57±0.01 ⁴⁾	0.44±0.48 ⁴⁾

泽方不仅能明显提高心力衰竭患者心功能分级,而

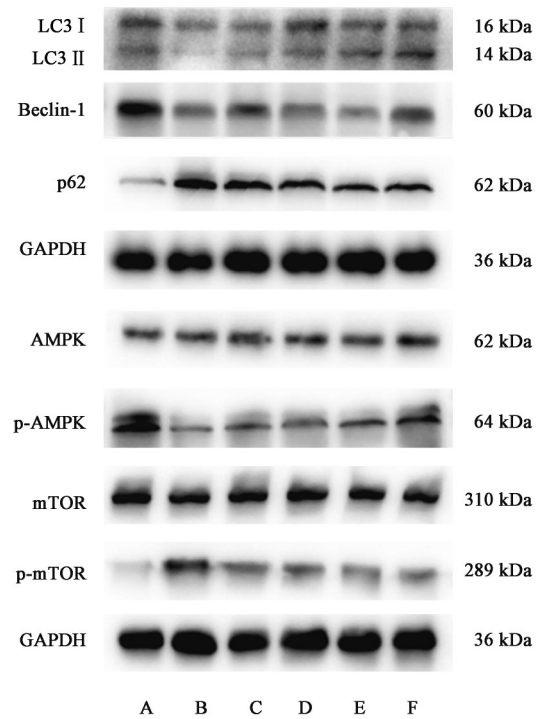


图6 大鼠心肌组织 LC3、p62、Beclin-1、AMPK、p-AMPK、mTOR、p-mTOR 蛋白电泳

Fig. 6 Electrophoretic of LC3, p62, Beclin-1, AMPK, p-AMPK, mTOR and p-mTOR proteins in rat myocardial tissue

且能够显著改善血浆BNP水平和中医证候评分及生活质量评分^[15]。课题组前期研究发现,参附芎泽方能够通过降低血清TNF- α 、血管紧张素II(Ang II)含量,抑制TGF- β_1 和结缔组织生长因子

表7 参附芎泽方对大鼠 LC3、Beclin-1、AMPK、mTOR mRNA 水平的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 7 Effect of Shenfu Xiongzefang prescription on mRNA levels of LC3, Beclin-1, AMPK and mTOR in rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	LC3	Beclin-1	AMPK	mTOR
空白组		8.96±0.32	7.23±0.56	8.75±0.33	0.12±0.01
模型组		1.01±0.08 ²⁾	1.00±0.05 ²⁾	1.00±0.03 ²⁾	1.00±0.04 ²⁾
参附芎泽方低剂量组	8.4	3.31±0.25 ⁴⁾	3.37±0.46 ³⁾	4.03±0.09 ⁴⁾	0.61±0.02 ⁴⁾
参附芎泽方中剂量组	16.8	5.41±0.23 ⁴⁾	5.59±1.06 ⁴⁾	4.96±0.29 ⁴⁾	0.57±0.01 ⁴⁾
参附芎泽方高剂量组	33.6	6.96±0.25 ⁴⁾	5.52±0.19 ⁴⁾	5.50±0.28 ⁴⁾	0.41±0.01 ⁴⁾
卡托普利组	0.025	4.90±0.26 ⁴⁾	5.09±0.39 ⁴⁾	5.18±0.20 ⁴⁾	0.49±0.01 ⁴⁾

表8 参附芎泽方对大鼠LC3、p62、Beclin-1、AMPK、p-AMPK、mTOR、p-mTOR蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 8 Effect of Shenfu Xiongze prescription on protein expressions of LC3, p62, Beclin-1, AMPK, p-AMPK, mTOR and p-mTOR in rats ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	LC3 II /LC3 I	Beclin-1/GAPDH	p62/GAPDH	p-AMPK/AMPK	p-mTOR/mTOR
空白组		1.31±0.08	1.33±0.10	0.28±0.02	1.10±0.06	0.34±0.03
模型组		0.61±0.07 ¹⁾	0.48±0.01 ²⁾	1.28±0.06 ²⁾	0.19±0.01 ²⁾	1.14±0.01 ²⁾
参附芎泽方低剂量组	8.4	1.42±0.18 ³⁾	0.73±0.01	0.76±0.02 ⁴⁾	0.53±0.02	0.66±0.03 ⁴⁾
参附芎泽方中剂量组	16.8	1.45±0.18 ⁴⁾	0.81±0.08 ³⁾	0.69±0.01 ⁴⁾	0.68±0.09 ³⁾	0.62±0.03 ⁴⁾
参附芎泽方高剂量组	33.6	1.60±0.18 ⁴⁾	0.85±0.11 ³⁾	0.59±0.02 ⁴⁾	0.75±0.14 ⁴⁾	0.59±0.03 ⁴⁾
卡托普利组	0.025	1.73±0.16 ⁴⁾	0.94±0.37 ³⁾	0.62±0.05 ⁴⁾	0.60±0.11 ³⁾	0.60±0.02 ⁴⁾

(CTGF)的表达,抑制炎症反应和RASS系统激活,减少心肌胶原纤维的形成,具有多靶点、多途径干预心肌纤维化的机制^[6];并且可增加心力衰竭大鼠心肌组织AMPK、葡萄糖转运蛋白4型(GLUT-4)蛋白的表达,调控心肌的能量代谢达到改善心功能作用^[16]。这些研究结果证明参附芎泽方疗效确切,但是其具体作用机制尚未完全阐明。因此本实验拟研究参附芎泽方是否通过AMPK/mTOR信号通路调控心肌重构大鼠自噬及其具体的作用机制。

心肌重构是各种心血管疾病共同的病理基础,主要表现在3个方面,一是心肌细胞重构,具体表现为心肌肥厚^[17];二是心肌间质重构,表现为心肌纤维化等^[18];三是能量代谢重构,在心力衰竭等心血管疾病中尤为常见^[19]。IL-6作为经典的炎症因子,反应了炎症水平^[20]。BNP是反映心功能变化的指标,并可用于协助诊断心衰^[21]。 α -SMA是肌成纤维细胞的特征性蛋白,常用于反映心肌纤维化程度,TGF- β_1 是重要的促纤维化因子,也是反映心肌重构的重要指标^[22]。本实验研究结果显示,参附芎泽方能够降低心肌重构大鼠血清IL-6、BNP水平,降低心肌组织中Collagen I、Collagen III、 α -SMA和TGF- β_1 蛋白表达水平,提示参附芎泽方能够降低心肌重构大鼠心脏纤维化及炎症水平,同时改善心功能。

研究发现,自噬在心肌重构中扮演重要角色^[23]。自噬是一种细胞内部的自我降解过程,在维持细胞稳态、应对营养应激、清除损伤细胞器和蛋白质聚集等方面发挥着重要作用^[24]。研究表明,心肌细胞自噬在心肌重构过程中起保护作用,增强的自噬通过清除功能失调的线粒体和保持腺嘌呤核苷三磷酸(ATP)水平来防止心脏重构的进展,表明增强自噬可能是一种治疗策略^[25]。LC3、Beclin-1是自噬过程中的关键调控蛋白,同时也是反应自噬水平的重要指标^[26]。本实验研究结果显示,参附芎泽方能够升高心肌重构大鼠心肌组织中Beclin-1、

LC3 II /LC3 I 蛋白和mRNA表达水平,降低p62蛋白表达水平;透射电镜结果也显示,参附芎泽方能够使心肌重构大鼠心肌自噬泡数量增加,这些结果提示参附芎泽方可以激活心肌重构大鼠心肌自噬,并提高自噬水平,以达到改善心肌重构的目的。

AMPK和mTOR是自噬环节中的关键蛋白激酶,AMPK/mTOR信号通路是调控细胞自噬的关键通路,广泛参与心肌重构的病理生理过程,通过调控自噬的启动和抑制,影响心肌细胞的存活和功能^[27]。AMPK是细胞能量状态的传感器,当细胞能量不足时AMPK被激活,激活的AMPK通过磷酸化ULK1来启动自噬;mTOR是自噬的主要负调节因子,其活性受营养状态和能量水平的调控^[28]。当心肌缺血或者能量缺乏等情况时,AMPK通过磷酸化和激活TSC复合体亚基2(TSC2)来抑制mTORC1,从而激活自噬,进而对心肌细胞起保护作用^[29]。本实验研究结果显示,参附芎泽方可提高心肌重构大鼠心肌组织中p-AMPK蛋白表达水平并下调p-mTOR蛋白表达,PCR结果也证实了这一观点,提示参附芎泽方调控心肌重构大鼠自噬可能是通过AMPK/mTOR信号通路来发挥作用。

综上所述,参附芎泽方能够通过提高自噬水平改善心肌重构大鼠的心肌重构,可能是通过激活AMPK/mTOR信号通路实现的。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[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, 2019, 16(4): 203-212.
[2] McMURRAY J J, PFEFFER M A. Heart failure [J]. Lancet, 2005, 365(9474): 1877-1889.
[3] BAIDYUK E V, SAKUTA G A, VOROBEV M L, et al. Rat left ventricular cardiomyocytes characterization in the process of postinfarction myocardial remodeling [J]. Cytometry A, 2019, 95(7): 730-736.

- [4] AGGARWAL M, AGGARWAL B, RAO J. Integrative medicine for cardiovascular disease and prevention [J]. *Med Clin North Am*, 2017, 101(5):895-923.
- [5] 蓝宇,罗富锟,于悦,等.心力衰竭的中医认识与经方治疗策略[J].*中国中药杂志*, 2024, 49(23):6521-6532.
LAN Y, LUO F K, YU Y, et al. Traditional Chinese medicine understanding of heart failure and treatment strategies based on ancient prescriptions [J]. *China J Chin Mater Med*, 2024, 49(23):6521-6532.
- [6] 于远望,蔡倩玮,钟伟,等.参附芎泽方对压力超负荷大鼠心肌TGF- β_1 、CTGF表达的影响[J].*时珍国医国药*, 2018, 29(1):24-26.
YU Y W, CAI Q, ZHONG W, et al. Effects of Shenfu Xiongze prescription on the expression of TGF- β_1 and CTGF in the heart of rats under stress overload [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2018, 29(1):24-26.
- [7] 韩曼,马莉,于远望.参附芎泽方药对阿霉素所致心力衰竭大鼠心功能的影响[J].*环球中医药*, 2012, 5(5):342-346.
HAN M, MA L, YU Y W. Effects of Shenfu Xiongze prescription on cardiac function in rat model of Adriamycin-induced heart failure [J]. *Glob Tradit Chin Med*, 2012, 5(5):342-346.
- [8] NISHIDA K, KYOI S, YAMAGUCHI O, et al. The role of autophagy in the heart [J]. *Cell Death Differ*, 2009, 16(1):31-38.
- [9] WANG L P, YUAN D, ZHENG J, et al. Chikusetsu saponin IVa attenuates isoprenaline-induced myocardial fibrosis in mice through activation autophagy mediated by AMPK/mTOR/ULK1 signaling [J]. *Phytomedicine*, 2019, 58:152764.
- [10] 李焯,徐强.中医药调控自噬治疗心衰的研究进展[J].*中国处方药*, 2022, 20(9):196-198.
LI Y, XU Q. Research progress on the regulation of autophagy by traditional Chinese medicine for the treatment of heart failure [J]. *Chin Prescr Drug*, 2022, 20(9):196-198.
- [11] HU J Q, WANG X, CUI X Y, et al. Quercetin prevents isoprenaline-induced myocardial fibrosis by promoting autophagy via regulating miR-223-3p/FoxO3 [J]. *Cell Cycle*, 2021, 20(13):1253-1269.
- [12] 谈宇权,张君宇,杨梦,等.异丙肾上腺素诱导慢性心衰模型不同方案的比较[J].*中国实验动物学报*, 2024, 32(2):161-167.
TAN Y Q, ZHANG J Y, YANG M, et al. Comparison of different protocols for chronic heart failure model induced by Isoproterenol [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2024, 32(2):161-167.
- [13] 王晓燕,李七一,严士海.异丙肾上腺素诱导慢性心力衰竭大鼠模型实验研究[J].*辽宁中医药大学学报*, 2017, 19(8):31-34.
WANG X Y, LI Q Y, YAN S H. Experimental study on the establishment of chronic heart failure rat model by Isoproterenol [J]. *J Liaoning Univ Tradit Chin Med*, 2017, 19(8):31-34.
- [14] 崔静,朱林平,樊博雅,等.从中医气化学理论辨治慢性心力衰竭[J].*辽宁中医杂志*, 2023, 50(12):38-42.
CUI J, ZHU L P, FAN B Y, et al. Treating chronic heart failure based on the theory of Qi transformation in traditional Chinese medicine [J]. *Liaoning J Tradit Chin Med*, 2023, 50(12):38-42.
- [15] 王永刚,钟伟,于远望,等.参附芎泽胶囊治疗慢性心力衰竭59例临床观察[J].*中医杂志*, 2013, 54(3):218-221.
WANG Y G, ZHONG W, YU Y W, et al. Clinical observation on 59 cases of chronic heart failure treated with Shenfu Xiongze capsule [J]. *J Tradit Chin Med*, 2013, 54(3):218-221.
- [16] 钟伟,于远望,张淑珍,等.参附芎泽方对心肌梗死后心力衰竭模型大鼠心肌能量代谢的影响[J].*长春中医药大学学报*, 2018, 34(3):415-418.
ZHONG W, YU Y W, ZHANG S Z, et al. Effects of Shenfu Xiongze prescription on myocardial energy metabolism in rat model of heart failure after myocardial infarction [J]. *J Changchun Univ Tradit Chin Med*, 2018, 34(3):415-418.
- [17] HEINZEL F R, HOHENDANNER F, JIN G, et al. Myocardial hypertrophy and its role in heart failure with preserved ejection fraction [J]. *J Appl Physiol*, 2015, 119(10):1233-1242.
- [18] KEMP C D, CONTE J V. The pathophysiology of heart failure [J]. *Cardiovasc Pathol*, 2012, 21(5):365-371.
- [19] NG S M, NEUBAUER S, RIDER O J. Myocardial metabolism in heart failure [J]. *Curr Heart Fail Rep*, 2023, 20(1):63-75.
- [20] TANAKA T, NARAZAKI M, KISHIMOTO T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2014, 6(10):a016295.
- [21] LUKOWICZ T V, FISCHER M, HENSE H W, et al. BNP as a marker of diastolic dysfunction in the general population: Importance of left ventricular hypertrophy [J]. *Eur J Heart Fail*, 2005, 7(4):525-531.
- [22] KHALIL H, KANISICAK O, PRASAD V, et al. Fibroblast-specific TGF- β -Smad2/3 signaling underlies cardiac fibrosis [J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(10):3770-3783.
- [23] KLIONSKY D J, PETRONI G, AMARAVADI R K, et al. Autophagy in major human diseases [J]. *EMBO J*, 2021, 40(19):e108863
- [24] LIU S Z, YAO S J, YANG H, et al. Autophagy: Regulator of cell death [J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(10):648.
- [25] SCIARRETTA S, MAEJIMA Y, ZABLOCKI D, et al. The role of autophagy in the heart [J]. *Annu Rev Physiol*, 2018, 80:1-26.
- [26] TANIDA I, UENO T, KOMINAMI E. LC3 and autophagy [J]. *Methods Mol Biol*, 2008, 445:77-88.
- [27] SONG B F, ZHANG H, ZHOU B. Retracted: Dapagliflozin inhibits ventricular remodeling in heart failure rats by activating autophagy through AMPK/mTOR pathway [J]. *Comput Math Methods Med*, 2023, doi: 10.1155/2023/9850245.
- [28] LI Y J, CHEN Y Y. AMPK and autophagy [M]. *Autophagy: Biology and Diseases*. Singapore:Springer, 2019:85-108.
- [29] GAO G Y, CHEN W W, YAN M J, et al. Rapamycin regulates the balance between cardiomyocyte apoptosis and autophagy in chronic heart failure by inhibiting mTOR signaling [J]. *Mol Med*, 2020, 45(1):195-209.

[责任编辑 孙丛丛]