

基于靶向代谢组学和生物信息学分析心力衰竭大鼠 精氨酸代谢失调

李泽宇, 王晓晴, 房政钰, 赵玉柔, 肖贺, 刘彭浩邦, 张海鸣, 刘春艳*, 胡艳红*
(中国中医科学院医学实验中心, 北京 100700)

[摘要] **目的:** 本研究系统分析心力衰竭大鼠模型中的精氨酸代谢失调, 为阐释心力衰竭病机提供现代科学依据, 并为中医药防治提供新思路。**方法:** 通过开胸手术结扎大鼠左冠状动脉前降支, 造成心肌急性缺血, 从而诱导心肌梗死后心力衰竭的形成, 分为假手术组和模型组, 每组8只。运用超高效液相色谱-三重四极杆质谱(UPLC-TQ-S)技术进行血清靶向代谢组学分析, 并利用空气动力辅助解吸电喷雾电离质谱成像(AFADESI-MSI)技术观察心脏组织中代谢物的空间分布。通过人类基因综合数据库(GeneCards)、基因表达综合数据库(GEO)等筛选心力衰竭与精氨酸代谢相关靶点, 构建蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络, 并进行京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路、基因本体(GO)富集分析。对核心代谢成分与关键靶点进行分子对接验证, 并基于核心通路及靶标进行中药预测。**结果:** 与假手术组比较, 模型组大鼠血清中精氨酸、瓜氨酸水平显著下降($P<0.01$), 脯氨酸、鸟氨酸、肌酸、肌酐及谷氨酸水平明显升高($P<0.05$, $P<0.01$)。心脏质谱成像显示, 心肌局部精氨酸丰度下降。生物信息学分析筛选出24个核心作用靶点, 如血管紧张素转换酶(ACE)、神经型一氧化氮合酶1(NOS1)、5-羟色胺2A受体(HTR2A)、表皮生长因子受体(EGFR)等, 富集分析提示其显著参与钙信号通路、神经活性配体-受体相互作用及磷脂酰肌醇信号通路。分子对接证实, 精氨酸、瓜氨酸与HTR2A, 肌酸、肌酐与EGFR等具有较强结合活性。基于通路靶点预测出人参、厚朴等潜在干预中药。**结论:** 本研究揭示了心力衰竭状态下存在特征性的精氨酸代谢紊乱, 其核心靶点与磷脂酰肌醇信号通路密切相关, 从代谢物与信号通路层面为心力衰竭的中医病机提供了现代生物学诠释, 为心力衰竭的靶向治疗及中医药开发提供借鉴。

[关键词] 心力衰竭; 精氨酸; 代谢组学; 生物信息学; 质谱成像

[中图分类号] R277; R285; R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2026)10-0229-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20260444

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20260309.1739.009>

[网络出版日期] 2026-03-10 10:02:55 **[增强出版附件]** 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>



Arginine Metabolic Disorder in Heart Failure Rats: Analysis Based on Targeted Metabolomics and Bioinformatics

LI Zeyu, WANG Xiaoqing, FANG Zhengyu, ZHAO Yurou, XIAO He, LIU Penghaobang,
ZHANG Haiming, LIU Chunyan*, HU Yanhong*

(Experimental Research Center, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** This study systematically analyzed the arginine metabolic dysregulation in the rat model of heart failure (HF), providing a modern scientific basis for elucidating the pathogenesis of HF and offering new insights for the prevention and treatment of HF with traditional Chinese medicine (TCM). **Methods:** A thoracotomy was performed to ligate the left anterior descending coronary artery of rats, which induced acute myocardial ischemia and thus led to the development of post-myocardial infarction heart failure. The rats were divided into a sham surgery group and a model group, with eight rats in each group. Serum targeted metabolomics analysis was performed using ultra-performance liquid chromatography-triple quadrupole mass

[收稿日期] 2026-01-15

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82104673, 82304737); 中国中医科学院医学实验中心科技发展基金项目(FZ2026007); 中国中医科学院医学实验中心中医药实验能力提升专项(NLTS2025005)

[第一作者] 李泽宇, 在读博士, 从事基于代谢组学的中药作用机制研究, E-mail: 937748197@qq.com

[通信作者] * 胡艳红, 助理研究员, 从事中西医结合心血管病研究, E-mail: huyan hong3737@163.com;

* 刘春艳, 助理研究员, 从事心血管中药药理机制研究, E-mail: lcy19880102@163.com

spectrometry (UPLC-TQ-S), and the spatial distribution of metabolites in cardiac tissue was observed using airflow-assisted desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging (AFADESI-MSI). Targets associated with HF and arginine metabolism were screened from databases including GeneCards and the Gene Expression Omnibus (GEO), a protein-protein interaction (PPI) network was constructed, and enrichment analysis of the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway and Gene Ontology (GO) was performed. Finally, molecular docking was conducted to verify the binding between core metabolic components and key targets, and potential TCMs were predicted based on the core pathways and targets. **Results:** Compared with the sham surgery group, the levels of arginine and citrulline in the serum of model rats were significantly decreased ($P < 0.01$), while those of proline, ornithine, creatine, creatinine and glutamate were significantly increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Cardiac mass spectrometry imaging showed a decreased abundance of arginine in the local myocardial tissue. Bioinformatics analysis identified 24 core functional targets, such as the angiotensin-converting enzyme (ACE), neuronal nitric oxide synthase (NOS1), 5-hydroxytryptamine receptor 2A (HTR2A), and epidermal growth factor receptor (EGFR), and enrichment analysis indicated that these targets were significantly involved in the calcium signaling pathway, neuroactive ligand-receptor interactions, and phosphatidylinositol signaling pathway. Molecular docking confirmed strong binding activities between arginine, citrulline and HTR2A, as well as between creatine, creatinine and EGFR. Based on pathway-target prediction, potential TCM interventions, such as ginseng and magnolia, were identified. **Conclusion:** This study revealed characteristic arginine metabolic disorder in HF, and the core targets of HF were closely associated with the phosphatidylinositol signaling pathway. It provides a modern biological interpretation of the pathogenesis of HF in TCM from the perspectives of metabolites and signaling pathways, and offers valuable insights for targeted therapy of HF and the development of TCM.

[Keywords] heart failure; arginine; metabolomics; bioinformatics; mass spectrometry imaging

在中医理论体系中,心力衰竭大多归属于“心悸”“喘证”“水肿”“胸痹”等病症范畴。其病机通常可归结为心气亏虚、心阳不振、瘀血阻络、水饮内停,且与脾、肾等脏腑的功能失调紧密相关^[1]。心力衰竭是全球范围内主要的公共卫生难题,亦是众多心脏疾病发展的终末阶段,影响约6 400万人。该病症会致使患者生活质量降低,并给医疗体系带来沉重的负担,其主要特征为心输出量减少或左心室充盈压升高^[2-3]。尽管近年来心力衰竭的药物治疗(如血管紧张素受体脑啡肽酶抑制剂、钠-葡萄糖协同转运蛋白2抑制剂等)取得了重要进展,但其发病率与死亡率仍居高不下^[4]。因此,深入阐明心力衰竭的发病机制、寻找新的治疗靶点,仍是心血管领域亟待解决的关键科学问题。近年来,随着代谢组学等系统生物学方法的兴起,从微观代谢层面揭示疾病的生物标志物与病理机制成为可能,也为中西医结合研究开辟了新的技术途径。

代谢组学已成为识别心力衰竭进展过程中代谢物变化、进而为其发病机制提供关键见解的重要工具。精氨酸代谢与心力衰竭之间存在显著的相关性,有研究证据显示,补充精氨酸可能对心功能产生积极效应,并改善心力衰竭患者的生活质量,且精氨酸水平与心房颤动和心力衰竭的风险呈负相关^[5]。此外,研究证实,补充精氨酸可通过改善射血分数、左心室功能和舒张功能障碍来促进心脏逆重塑,从而有效提升心力衰竭患者的生活质量^[6]。另外,精氨酸代谢在缺血预适应过程中对正常心肌细胞的存活发挥着至关重要的作用^[7-8]。众多学者

对精氨酸影响心力衰竭的机制展开了研究。精氨酸是一氧化氮生物合成的主要底物,一氧化氮分子对于维持血管稳态至关重要,并且参与心脏收缩力和免疫反应的调节^[9]。在心力衰竭患者体内,心脏和全身的精氨酸摄取显著减少,同时精氨酸转运系统出现下调。这种下调间接损害了一氧化氮合成途径,进而对心血管功能产生不利影响^[10]。因此,深入探究心力衰竭中精氨酸相关代谢成分的改变具有重要意义。然而,目前关于精氨酸代谢在心力衰竭中的系统研究多集中于单一代谢物或单一时间点的检测,缺乏对精氨酸代谢网络及其下游信号通路的整体性认识。

因此,本研究以中医心力衰竭病机为理论指导,以精氨酸代谢为切入点,通过靶向代谢组学技术捕捉心力衰竭状态下的代谢物动态变化,利用质谱成像技术原位观察心肌组织中代谢物的空间分布,并结合生物信息学方法系统挖掘其与心血管信号通路的关联。旨在从代谢物-靶点-通路多维层面,为心力衰竭的中医病机提供现代分子生物学证据,实现中医理论与系统生物学之间的桥梁式对接。

1 材料

1.1 试剂 液相色谱-质谱联用(LC-MS)级乙腈与甲酸(美国 Fisher Scientific 公司,货号分别为 047138、K2、TS-28905)。超纯水(电阻率为 18.2 MΩ·cm)采用 Milli-Q 系统(美国 Millipore 公司)制备。标准品涵盖瓜氨酸、精氨酸、谷氨酸、鸟氨酸、肌酸、脯氨酸、肌酐(美国 Sigma 公司,货号分别为 c7629、A8094、G8415、O2375、C0780、P0380、

C4255); *L*-精氨酸-d4内标(美国 Cambridge Isotope Laboratories 公司, 货号 IR-24549)。

1.2 动物 选取 16 只 6~8 周龄、体质量约 240 g 的雄性 SD 大鼠, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物合格证号 SCXK(京)2021-0006, 质量合格证编号 110322211100650567。饲养于 SPF 级动物房, 温度 23~26 °C, 相对湿度 50%~70%, 动物自由摄食、饮水, 房间设置独立通风系统。

1.3 伦理 本研究开展的动物实验获得了天津药物研究院动物伦理委员会(LL20230713)的批准, 并符合国际公认的实验动物伦理使用与护理指南。

1.4 仪器 Acquity BEH Amide 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm, 美国 Waters 公司); Xevo TQ-S 型三重四极杆质谱仪(美国 Waters 公司); 徕卡 CM3600 型冰冻切片仪(德国徕卡公司); Cryotome FSE 型冰冻切片仪、Q Exactive 型 Q-Orbitrap 质谱仪、Xcalibur 3.0 Qual Browser 数据处理软件(美国赛默飞世尔科技公司); Milli-Q Advantage A10 超纯水系统(美国 Millipore 公司); 3-18K 型高速冷冻离心机(德国 Sigma 公司); Vortex-Genie 2 型涡旋振荡器(美国 Scientific Industries 公司)。

2 方法

2.1 动物分组与造模 将大鼠随机分为假手术组与左前降支冠状动脉结扎模型组, 每组 8 只。通过开胸手术结扎大鼠左冠状动脉前降支, 造成心肌急性缺血, 诱导心肌梗死后的心力衰竭。假手术组除不进行左冠状动脉结扎操作, 其余步骤均与模型组一致。28 d 后对大鼠实施安乐死, 采集血清、心脏样本, 并置于-80 °C 保存。

2.2 色谱条件 采用 Acquity BEH Amide 色谱柱进行超高效液相色谱(UPLC)分析。流动相 A 为含 0.2% 甲酸和 1 mmol 甲酸的乙腈溶液, 流动相 B 为含 0.1% 甲酸和 1 mmol 甲酸的超纯水。梯度洗脱程序如下: 0~0.5 min, 流动相 A 85%; 0.5~5.5 min, 流动相 A 由 85% 降至 80%; 5.5~12.5 min, 流动相 A 由 80% 降至 60%; 12.5~13.0 min, 流动相 A 由 60% 升至 85%; 13.0~15.0 min, 流动相 A 维持 85%。柱温保持在 40 °C, 流速设定为 0.3 mL·min⁻¹, 进样体积为 5 μL。

2.3 质谱条件 运用 Waters 三重四极杆质谱仪(TQ-S)在正离子模式下进行多反应监测(MRM)。毛细管电压设定为 0.4 kV, 锥孔电压为 20 V。电喷雾离子源(ESI)温度保持在 150 °C, 脱溶剂气温度设定为 400 °C。脱溶剂气流速为 800 L·h⁻¹, 锥孔气流

速为 150 L·h⁻¹。每种氨基酸的特定母离子-子离子对及锥孔电压和碰撞能量已有相关记载。采用 MassLynx V 4.1 进行数据分析, 对离子对进行积分并处理所获取的谱图。质谱成像中的质谱参数设置如下: 毛细管温度为 350 °C; 扫描模式为全扫描; 扫描范围为 70~1 000 Da; 分辨率为 70 000。

2.4 测试溶液制备 为制备内标稀释液, 将 *L*-精氨酸-d4 标准品溶解于 1 mL 甲醇-水(1:1)溶液中, 充分混合制成标准储备液。将母液用纯甲醇稀释 50 倍, 得到内标质量浓度: *L*-精氨酸-d4(10.8 μg·L⁻¹)。将混合物充分混匀, 储存于 4 °C 冰箱备用。血清样本于 4 °C 将冰箱内样本解冻并振荡混匀后, 准确吸取血液样品 4 μL, 加入含内标的提取液 996 μL。经涡旋振荡使其充分混匀, 置于 4 °C 环境下, 以 12 000 r·min⁻¹ 离心 5 min(离心半径 8 cm), 取上清液转移至进样瓶, 以备检测使用。

2.5 质谱成像分析 将心脏组织包埋于 3% 羧甲基纤维素钠凝胶中, -80 °C 冷冻。采用徕卡 CM3600 切片仪切取 25 μm 厚切片, 用胶带转移至涂有环氧树脂的载玻片; 同时使用赛默飞 Cryotome FSE 切取 15 μm 厚切片, 直接置于玻璃载玻片。所有切片于-80 °C 储存。分析前, 切片在-20 °C 真空干燥器中干燥 2 h, 再室温干燥 1 h。质谱成像采用空气动力辅助解吸电喷雾电离源结合 Q-Orbitrap 质谱仪, 喷雾溶剂为乙腈-水 8:2。对于 25 μm 切片, 喷雾流速 10 μL·min⁻¹, X 扫描速率 0.65 mm·s⁻¹, Y 步进 1.2 mm; 对于 15 μm 切片, 喷雾流速 5 μL·min⁻¹, X 扫描速率 0.2 mm·s⁻¹, Y 步进 0.2 mm。正离子模式喷雾电压 7.0 kV, 负离子模式-7.0 kV; 雾化气压 0.7 MPa, 萃取气流速 45 L·min⁻¹。数据用 Xcalibur 转换为 Cdf 格式, 图像分析采用 MassImager 1.0 软件。

2.6 生物信息学分析 疾病与成分靶点获取: 以“heart failure”为关键词, 从基因表达综合数据库(GEO, GSE16499)和人类基因综合数据库(GeneCards)获取心力衰竭相关靶点, GeneCards 筛选阈值设为 Score>5。精氨酸代谢相关靶点通过 SwissTargetPrediction 预测获得。蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络构建: 利用搜索工具用于检索相互作用的基因/蛋白质(STRING)数据库构建交集靶点的蛋白互作网络, 使用 Cytoscape 3.7.2 进行可视化, 剔除无相互作用靶点后筛选核心靶点。基因本体(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析: 采用 R 包(org. Hs. eg. db、clusterProfiler、

enrichplot、ggplot2等)对靶点进行GO[生物学过程(BP)、细胞组分(CC)、分子功能(MF)]和KEGG通路富集分析,以调整后 $P<0.05$ 为显著性阈值。代谢物KEGG富集使用MetaboAnalyst平台。转录因子与miRNA预测:利用JASPAR转录因子结合位点数据库(Jaspar)预测与核心靶点相互作用的转录因子;通过实验支持的microRNA靶点数据库(TarBase)和实验验证的microRNA-靶标相互作用数据库(miRTarBase)识别调控靶点的miRNA,基于度值和功能特征分析其相互作用。基因-疾病关联分析:使用疾病基因网络数据库(DisGeNet)评估核心靶点相关的疾病谱,预测其潜在关联疾病及并发症。

2.7 分子对接分析与验证 从蛋白质数据银行(PDB)数据库(<http://www.rcsb.org/>)下载核心靶蛋白结构,利用PyMOL2.3.4软件对核心蛋白进行脱水、分离原始配体等操作,保存文件,随后导入Autodock软件进行氢化和原子类型设置,保存为“pdbqt”格式。从中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)数据库下载小分子结构,保存为“mol2”格式,并使用Autodock对核心成分进行分子对接。对接软件采用AutoDock 4.2.6,配体与受体预处理后,设置网格盒子中心为原配体结合区域,网格点数设为 $60\times 60\times 60$,格点间距 0.375 \AA 。结合能通过

半经验自由能计算评估,对接结果选取最低结合能构象。为验证对接可靠性,对原配体进行重新对接,计算均方根偏差(RMSD) $<2.0\text{ \AA}$ 视为可接受。

2.8 潜在中药预测 中药预测来自Coremine Medical (<https://www.pubgene.com/coremine-medical/>)平台,该平台可对核心靶标提供合理有效的中药推荐。

2.9 统计学分析 使用GraphPad Prism 10.3.0软件进行统计处理和数据可视化。所有数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,并采用单因素方差分析(One-way ANOVA)。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 心力衰竭大鼠血清精氨酸代谢成分发生改变

精氨酸、瓜氨酸、谷氨酸、鸟氨酸、脯氨酸、肌酸和肌酐在组别之间呈现出显著的稳定性与分离性。结果表明,与假手术组比较,模型组中精氨酸和瓜氨酸的浓度显著下降,差异有统计学意义($P<0.01$),而鸟氨酸、脯氨酸、肌酸、谷氨酸和肌酐的水平明显上升,差异有统计学意义($P<0.05, P<0.01$)。应用MetaboAnalyst平台对这些差异代谢物作用通路进行了富集分析,结果显示这些代谢物主要富集在精氨酸与脯氨酸代谢、尿素循环、甘氨酸与丝氨酸代谢、天门冬氨酸代谢等通路上。见表1及增强出版附加材料。

表1 假手术组与心力衰竭组血清精氨酸水平峰面积的比较分析($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 1 Comparative analysis of serum arginine peak area between sham operation group and heart failure group ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	肌酐	脯氨酸	肌酸	鸟氨酸
假手术组	37 329.53±2 305.03	34 324.68±2 354.46	8 338.80±1 230.24	7 011.18±838.25
模型组	41 628.74±3 588.36 ¹⁾	37 294.90±2 959.10 ¹⁾	9 912.57±1 034.08 ¹⁾	8 106.34±994.49 ¹⁾
组别	谷氨酸	精氨酸	瓜氨酸	
假手术组	76 662.13±14 326.20	1 340 064.06±89 190.07	54 360.46±2 794.19	
模型组	93 327.21±6 388.14 ²⁾	1 186 767.06±102 411.98 ²⁾	49 272.77±3 127.58 ²⁾	

注:与假手术组比较¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$

3.2 精氨酸代谢成分参与心力衰竭动态变化 为进一步阐释心力衰竭背景下精氨酸代谢的动态演变,开展纵向分析以监测大鼠模型中心力衰竭进展随着时间的变化情况。本研究着重评估了3个关键时间节点[基线(第0周)、第2周和第4周]精氨酸代谢成分的稳定性与区分度。结果表明,模型组心力衰竭大鼠在第0周与第2周、第2周与第4周之间,精氨酸代谢成分存在显著差异,体现了这些代谢通路随时间变化的趋势,见增强出版附加材料。在指定时间范围内对7种关键精氨酸代谢成分进行了细致

的纵向考察,结果如表2所示,随着心力衰竭的进展,精氨酸和瓜氨酸的水平明显降低($P<0.05, P<0.01$),而脯氨酸、鸟氨酸、谷氨酸、肌酸和肌酐的水平显著升高($P<0.01$),见表2。结果表明,随着心力衰竭的进展,精氨酸代谢在体内呈现累积效应,凸显了精氨酸代谢改变与心力衰竭发病机制之间的复杂交互作用。

3.3 精氨酸在心力衰竭大鼠心脏单组织中的空间分布情况 基于精氨酸代谢在心力衰竭大鼠血清中的变化,分析了精氨酸在心脏组织中的质谱成像

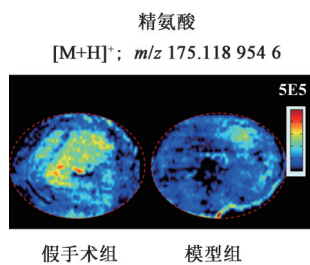
表2 模型组血清精氨酸的峰面积随时间变化情况 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 2 Change in serum arginine peak area over time in model group ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	肌酐	脯氨酸	肌酸	鸟氨酸
第0周模型组	24 727.00±2 002.62	26 666.96±2 642.89	6 250.18±866.86	5 365.49±325.76
第2周模型组	29 717.83±2 787.46 ²⁾	31 799.86±3 032.83 ²⁾	7 794.06±1 043.30 ²⁾	6 241.36±693.83 ²⁾
第4周模型组	42 481.02±2 602.53 ³⁾	38 505.41±2 321.30 ³⁾	10 024.65±927.84 ³⁾	8 698.08±644.30 ³⁾
组别	谷氨酸	精氨酸	瓜氨酸	
第0周模型组	57 122.33±11 082.89	1 226 189.33±100 633.98	65 329.48±9 296.89	
第2周模型组	59 508.75±12 989.23	1 051 295.46±74 077.87 ²⁾	55 258.13±5 125.36 ¹⁾	
第4周模型组	93 641.91±5 784.65 ³⁾	1 027 822.84±60 782.17 ³⁾	45 637.25±3 490.99 ³⁾	

注:与第0周比较¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$;与第2周比较³⁾ $P<0.01$

结果。心脏质谱成像数据显示,与假手术组比较,心力衰竭模型组中精氨酸丰度下降。在心力衰竭中,心肌细胞能量应激与氧化应激等导致精氨酸被大量用于合成一氧化氮以缓解缺氧,导致其在心肌细胞内含量下降。见图1。



注: m/z 值,相应离子态的质荷比;5E5.强度阈值

图1 假手术组和模型组心脏精氨酸成分比较图

Fig. 1 Comparison of cardiac arginine composition between sham surgery group and model group

3.4 精氨酸相关代谢物对大鼠心力衰竭的调控机制 通过GEO和GeneCards数据库获得3 598个心力衰竭相关靶点,经UniProt校正去重后筛选出59个精氨酸代谢相关靶点,最终交集得到24个关键靶点。PPI分析凸显了血管紧张素转换酶(ACE)、神经型一氧化氮合酶(NOS1)、5-羟色胺2A受体(HTR2A)、表皮生长因子受体(EGFR)、肾素(REN)、代谢型谷氨酸受体(GRM)1、GRM7、兴奋性氨基酸转运体2(SLC1A2)等核心靶点的相互作用。KEGG分析显示这些靶点通过钙信号通路、神经活性配体-受体相互作用及磷脂酶D通路参与心力衰竭调控,尤其聚焦于钙信号通路中的磷脂酰肌醇通路,且信号转导与信号分子在基因关联中占主导。GO分析表明,靶点生物学过程涉及循环系统调控、细胞稳态及突触信号等;细胞组分富集于突触前、膜筏等区域;分子功能包括NOS活性、神经递质受体活性等。miRNA网络分析揭示核心靶点与

has-mir-660-3p、has-mir-124-3p等强关联,提示潜在生物标志物。疾病关联分析显示精氨酸代谢在心力衰竭中的作用与孤独症、双相情感障碍等疾病相关,为“共病同治”提供依据。见增强出版附加材料。

3.5 基于磷脂酰肌醇信号通路的精氨酸代谢成分分子对接及关联中药预测 在基于KEGG网络聚焦通路时,研究发现精氨酸代谢的核心靶点主要对钙通道信号通路内的磷脂酰肌醇信号通路产生影响,基于此发现,对精氨酸代谢成分及磷脂酰肌醇信号通路所涉及的靶点展开验证分析。分子对接图片展示了不同配体(精氨酸、瓜氨酸、谷氨酸、鸟氨酸、脯氨酸、肌酸、肌酐)与3个靶点(HTR2A、EGFR、NOS)在5种不同对接结果(C1-C5)下对接活性的差异。颜色条右侧的数值代表对接活性指数,其从深蓝色(高活性)过渡至浅黄色(低活性),见增强出版附加材料。结果显示,所有配体与靶点均呈现出良好的结合能。相较于其他对接情景,精氨酸和瓜氨酸与HTR2A的对接,以及肌酸和肌酐与EGFR的对接,展现出更高的结合能,这表明其相互作用更强、亲和力更高且结合稳定性更好。在Coremine Medical数据库导入该通路的靶标,该数据库通过分析这些靶点与中药的文献共现频率,给出可能作用于这些靶点的中药推荐,通过对检索结果进行整合,计算每味中药与所有通路靶点关联的综合显著性,按关联强度排序,选取排名前10位的中药作为潜在有效中药,包括人参、厚朴等中药,具体详见表3,为疾病的靶向治疗提供借鉴意义。

4 讨论

心力衰竭作为各类心脏疾病的终末阶段,对个体健康、生命安全及生活质量均构成严重威胁。本研究综合运用代谢组学及生物信息学技术,系统探究了精氨酸代谢在心力衰竭中的关键作用及其潜

表3 基于Coremine Medical数据库靶向中药预测
Table 3 Prediction of targeted Chinese medicines based on coremine medical database

中药	显著性	来源
人参	9.62×10^{-4}	五加科植物人参的干燥根和根茎
人参叶	9.67×10^{-4}	五加科植物人参的干燥叶
人参花	9.76×10^{-4}	五加科植物人参的干燥花蕾
人参芦	9.77×10^{-4}	五加科植物人参的干燥根茎(芦头)
茶树根	2.84×10^{-3}	山茶科植物茶的干燥根
厚朴花	3.22×10^{-3}	木兰科植物厚朴或凹叶厚朴的干燥花蕾
厚朴	3.41×10^{-3}	木兰科植物厚朴或凹叶厚朴的干燥干皮、根皮及枝皮
灵芝	4.76×10^{-3}	多孔菌科真菌赤芝或紫芝的干燥子实体
姜皮	5.39×10^{-3}	姜科植物姜的干燥根茎外皮
生姜	5.42×10^{-3}	姜科植物姜的新鲜根茎

在调控机制。在中医理论体系中,心力衰竭归属于“心悸”“喘证”“水肿”等范畴,其基本病机呈现为本虚标实之象,以心气心阳亏虚为本,血瘀、水饮、痰浊内停为标。本研究发现,心力衰竭大鼠存在精氨酸代谢通路紊乱的现象,从现代科学视角为中医心力衰竭相关理论提供了全新的实证支撑。

精氨酸作为精氨酸加压素(AVP)的组成成分,其补充可独立诱导AVP释放。在心力衰竭患者体内,AVP轴被激活,导致心动过速和全身血管阻力增加^[11]。同型精氨酸作为一种精氨酸衍生的氨基酸,与中风和充血性心力衰竭存在关联^[12]。补充同型精氨酸的心力衰竭大鼠表现出肠道诱导型NOS(iNOS)和精氨酸失衡状态的稳定,从而增强了肠道屏障功能^[13]。精氨酸分解代谢物与心房颤动和心力衰竭存在关联^[5]。瓜氨酸化是肽基精氨酸脱亚氨酶(PAD)家族酶将精氨酸进行翻译后转化为瓜氨酸的过程,在心力衰竭病理过程中,瓜氨酸化蛋白参与心脏肌节的关键结构和功能变化^[14]。心力衰竭大鼠血液和心脏中的炎症细胞可能通过精氨酸酶1和iNOS消耗精氨酸,释放鸟氨酸和瓜氨酸^[15]。脯氨酸已被证实可通过氧化还原调节改善心肌梗死后的心脏重塑并减轻心肌细胞凋亡^[16]。在心力衰竭和多器官功能衰竭的早期急性期,肌酸激酶水平升高^[17],衰竭的心脏经历腺苷三磷酸(ATP)和肌酸的耗竭^[18]。血尿素氮(BUN)与肌酐的比值与心力衰竭恶化存在关联^[19]。谷氨酸影响心脏线粒体功能和能量平衡,可导致心力衰竭的发生与恶化^[20]。

本研究应用靶向代谢组学的方法分析了心力衰竭中的精氨酸代谢成分变化,为更深入地探究心

力衰竭大鼠精氨酸成分的分布情况,也采用了空气动力辅助解吸电喷雾电离质谱成像(AFADESI-MSI)技术。该技术无需标记即可对生物组织切片上的代谢物进行原位分析,从而揭示目标组织内化合物的分子信息和空间坐标。有研究运用MSI评估心肌脂质代谢与心力衰竭临床严重程度之间的联系^[21]。心力衰竭时,心肌细胞肌酸转运蛋白(CrT)表达下调,导致细胞内肌酸外流至血液。肌酸在肌肉中非酶促降解为肌酸酐,心力衰竭常伴肌肉消耗,导致肌酸酐产生增多。有研究发现心力衰竭患者血清肌酸/肌酸酐常升高,反映了能量缓冲系统的紊乱,而心脏组织中肌酸与磷酸肌酸的下降是心力衰竭能量代谢障碍的标志^[22]。精氨酸的消耗与瓜氨酸的转化在组织与循环中可能呈现不同的动态,心脏组织中精氨酸与瓜氨酸的水平变化与血清相似,但空间分布可能受炎症细胞浸润影响^[16]。心力衰竭过程中精氨酸与瓜氨酸的变化主要体现在精氨酸消耗增加与瓜氨酸生成减少。心肌与炎症细胞(如巨噬细胞)通过精氨酸酶1(arginase 1)和诱导iNOS加速消耗精氨酸,用于合成一氧化氮或转化为鸟氨酸,由于内皮型NOS(eNOS)功能受损,精氨酸到瓜氨酸的转化效率降低。心力衰竭中心肌脯氨酸脱氢酶(PRODH)表达下调,导致脯氨酸无法有效转化为谷氨酸,从而在细胞内积累,且心脏纤维化过程中,脯氨酸作为胶原蛋白的主要成分,其需求增加,导致合成上调。有研究证实压力超负荷诱导的心脏重塑中,PRODH表达下调,脯氨酸积累,促进心脏肥大与纤维化^[23]。本研究观察到精氨酸与瓜氨酸水平显著降低,提示其作为NO合成前体的供应不足,可能导致eNOS活性下降、一氧化氮生成减少,进而引起血管内皮功能障碍与心肌灌注不足,这与中医“气虚推动无力”所致的血行不畅病机相吻合^[9-10]。同时,肌酸、肌酐等能量代谢相关物质升高,反映心肌能量储备耗竭与能量转化障碍,提示“气虚”进一步发展导致“瘀浊内停”的代谢废物积聚状态^[22]。

为更深入地探究精氨酸对心力衰竭的调控机制,本研究对相关成分的靶点开展了生物信息学分析。首先,基于PPI网络,筛选出ACE、NOS1、HTR2A、EGFR、丙氨酰氨肽酶(ANPEP)等核心靶标。ACE和ACE2及血管紧张素肽水平在心血管疾病中具有关键作用,ACE抑制剂被认为对人类心力衰竭的治疗具有积极意义^[24-25]。氧化应激条件下的NOS1基因参与心力衰竭的调节过程^[26]。ANPEP是心力衰竭的生物标志物,且与心力衰竭治疗抵抗

相关^[27-28]。本研究发现,这些精氨酸代谢成分可通过影响钙信号通路、神经活性配体-受体相互作用及磷脂酶D信号通路等途径对心力衰竭进行调节。选择性剪接因子(ASF)调节的钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II δ (CaMK II δ)选择性剪接在病理性心脏重塑中发挥重要作用^[29]。神经活性配体-受体相互作用和钙信号通路在心血管疾病相关通路中显著富集^[30]。在磷脂酰肌醇信号通路中,HTR2A、EGFR主要发挥上游受体与激活的调控作用,NOS主要发挥下游效应与代谢的调控作用,而精氨酸代谢是NOS的底物通路,NOS活性是此代谢分支的关键限速步骤。磷脂酰肌醇信号通路中的磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(PI3K/Akt/mTOR)信号轴在心肌肥大和心力衰竭的发生发展中起着关键作用^[31]。精氨酸通过一氧化氮的生成,间接影响PI3K/Akt信号通路的活性,从而在心血管保护中发挥作用。精氨酸是NOS合成一氧化氮的前体底物,一氧化氮的生成依赖于精氨酸的供应,而一氧化氮在心力衰竭中的保护作用已被多项研究证实^[32-33],且精氨酸的代谢产物一氧化氮可以通过激活PI3K/Akt/eNOS信号通路,促进血管内皮细胞的存活和功能^[34]。有研究表明,HTR2A通过激活PI3K-3-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶1(PDK1)/Akt/mTOR信号通路促进心肌肥大,这一发现揭示了HTR2A在心血管系统中的重要作用^[35]。肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平升高与心肌纤维化、心肌细胞凋亡及心功能障碍密切相关^[36-37],TNF- α 可以改变极化上皮细胞中EGFR的分泌方向和速度,从而通过PI3K/Akt信号通路特异性地调节EGFR信号^[38]。多种microRNA可作为这些精氨酸代谢物与miRNA之间关系的特征性指标。心肌病衍生的mir-660-3p在心力衰竭期间于心脏和血浆中显著上调^[39]。转录因子mir-124-3p可能对缺血性心肌病中的坏死性凋亡特征基因进行调节^[40]。has-mir-16-5p是心肌病中的关键基因^[41]。Mir-24-3p通过下调抗增殖蛋白2(PHB2)抑制心脏成纤维细胞中的线粒体自噬,从而减轻心脏纤维化^[42]。Mir-335-5p与左心室重塑相关^[43]。此外,核心靶点分析表明精氨酸代谢对心力衰竭的影响常与孤独症、常染色体隐性遗传易感性、双相情感障碍、精神分裂症及抑郁障碍等病症存在密切关联。本研究还发现,孤独症成年患者相较于非孤独症成年个体,具有更高的心力衰竭发病风险^[44];常染色体显性遗传与心肌病的发生发展存在关联^[45];双相情感

障碍与心肌病引发的心力衰竭紧密相关^[46];患有慢性精神障碍的个体,其患充血性心力衰竭的终生风险高达63%^[47];重度抑郁症(MDD)与心脏发病率的增加也存在相关性^[48]。

从中医角度解读,精氨酸代谢紊乱可视为“气化失常”在代谢层面的体现:精氨酸下降反映“气化无力”,致一氧化氮合成不足、血管舒缩失常;代谢产物如肌酐、脯氨酸等蓄积,则对应“瘀浊内停”的病理产物堆积。本研究通过代谢组学和生物信息学分析,初步揭示了精氨酸代谢在心力衰竭中的关键调节作用。本研究也存在一定局限性,如样本量较少;缺乏临床样本验证;分子对接结果尚未经体外或体内实验证实;生物信息学分析依赖于现有数据库,可能存在数据偏倚;中药预测仅为理论分析,其实际干预效果有待进一步实验验证等。未来应在以上方面开展深入研究,为心力衰竭的靶向治疗及中医药开发提供更充分的依据。中医药具有多成分、多靶点、整体调节的优势,未来可进一步探讨益气活血类中药(如黄芪、人参等)是否可通过调控精氨酸代谢、影响磷脂酰肌醇信号通路发挥抗心力衰竭作用。这不仅可以丰富心力衰竭的中西医结合治疗策略,也为中药复方作用机制的现代阐释提供了新的研究思路。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 张伯礼,吴勉华. 中医内科学[M]. 北京:中国中医药出版社,2017.
ZHANG B L, WU M H. Internal Medicine of Traditional Chinese Medicine [M]. Beijing: China Traditional Chinese Medicine Press, 2017.
- [2] QIAN C, LIU J, LIU H. Targeting estrogen receptor signaling for treating heart failure [J]. Heart Fail Rev, 2024, 29(1): 125-131.
- [3] DINI F L, CARLUCCIO E, GHIO S, et al. Patient phenotype profiling using echocardiography and natriuretic peptides to personalise heart failure therapy [J]. Heart Fail Rev, 2024, 29(2): 367-378.
- [4] LEJONBERG C, CZUBA T, EGERSTEDT A, et al. Metabolite profiles of heart failure, central hemodynamic derangement, and response to heart transplantation [J]. J Am Heart Assoc, 2025, 14(14): e039248.
- [5] GONI L, RAZQUIN C, TOLEDO E, et al. Arginine catabolism metabolites and atrial fibrillation or heart failure risk: 2 Case-control studies within the Prevención con Dieta Mediterránea (PREDIMED) trial [J]. Am J Clin Nutr, 2022, 116(3): 653-662.

- [6] NI S. Effect of L-arginine on cardiac reverse remodeling and quality of life in patients with heart failure [J]. Clin Nutr, 2021,40(7):4653.
- [7] HANDA A K, FATIMA T, MATTOO A K. Polyamines: Biomolecules with diverse functions in plant and human health and disease [J]. Front Chem, 2018,6:10.
- [8] WANG W, ZHANG H, XUE G, et al. Exercise training preserves ischemic preconditioning in aged rat hearts by restoring the myocardial polyamine pool [J]. Oxid Med Cell Longev, 2014, doi: 10. 1155/2014/457429.
- [9] CHIN-DUSTING J P, WILLEMS L, KAYE D M. L-arginine transporters in cardiovascular disease: A novel therapeutic target [J]. Pharmacol Ther, 2007, 116(3):428-436.
- [10] KAYE D M, PARNELL M M, AHLERS B A. Reduced myocardial and systemic L-arginine uptake in heart failure [J]. Circ Res, 2002, 91(12):1198-1203.
- [11] MANOLIS A A, MANOLIS T A, MANOLIS A S. Neurohumoral activation in heart failure [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(20):15472.
- [12] HANNEMANN J, SKENE D J, MIDDLETON B, et al. Diurnal Variation of L-arginine and the cardiovascular risk markers asymmetric and symmetric dimethylarginine and homoarginine in rotating night shift workers and controls [J]. Biomolecules, 2023, 13(9):1282.
- [13] BÜTTNER P, WERNER S, BÖTTNER J, et al. Systemic effects of homoarginine supplementation on arginine metabolizing enzymes in rats with heart failure with preserved ejection fraction [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(19):14782.
- [14] FERT-BOBER J, GILES J T, HOLEWINSKI R J, et al. Citrullination of myofibrillar proteins in heart failure [J]. Cardiovasc Res, 2015, 108(2):232-242.
- [15] BÜTTNER P, WERNER S, BASKAL S, et al. Arginine metabolism and nitric oxide turnover in the ZSF1 animal model for heart failure with preserved ejection fraction [J]. Sci Rep, 2021, 11(1):20684.
- [16] WANG J, XUE Z, LIN J, et al. Proline improves cardiac remodeling following myocardial infarction and attenuates cardiomyocyte apoptosis via redox regulation [J]. Biochem Pharmacol, 2020, 178:114065.
- [17] ALGHAMDI F, ALHARBI A, MOHAMED F, et al. Clinical phenotype associated with variants in TANGO2: A case study [J]. Arch Pediatr, 2023, 30(6):438-440.
- [18] MOUSAVI-AGHDAS S A, FARASHI E, NADERI N. Iron dyshomeostasis and mitochondrial function in the failing heart: A review of the literature [J]. Am J Cardiovasc Drugs, 2024, 24(1):19-37.
- [19] TOLOMEO P, BUTT J H, KONDO T, et al. Independent prognostic importance of blood urea nitrogen to creatinine ratio in heart failure [J]. Eur J Heart Fail, 2024, 26(2):245-256.
- [20] KATANE M, ARIYOSHI M, TATEISHI S, et al. Structural and enzymatic properties of mammalian D-glutamate cyclase [J]. Arch Biochem Biophys, 2018, 654:10-18.
- [21] AKITA K, KIKUSHIMA K, IKOMA T, et al. The association between the clinical severity of heart failure and docosahexaenoic acid accumulation in hypertrophic cardiomyopathy [J]. BMC Res Notes, 2022, 15(1):139.
- [22] BALESTRINO M. Role of creatine in the heart: Health and disease [J]. Nutrients, 2021, 13(4):1215.
- [23] LV Q, LI D, ZHAO L, et al. Proline metabolic reprogramming modulates cardiac remodeling induced by pressure overload in the heart [J]. Sci Adv, 2024, 10(19):ead13549.
- [24] DEMEUSE J, HUYGHEBAERT L, DETERME W, et al. Development and validation of an LC-MS/MS method for the simultaneous quantitation of angiotensin (1-7), (1-8), (1-9) and (1-10) in human plasma [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2024, 1232:123943.
- [25] KIYOMOTO K, MATSUO I, SUITA K, et al. Oral angiotensin-converting enzyme inhibitor captopril protects the heart from *Porphyromonas gingivalis* LPS-induced cardiac dysfunction in mice [J]. PLoS One, 2023, 18(11):e0292624.
- [26] LANZER J D, VALDEOLIVAS A, PEPIN M, et al. A network medicine approach to study comorbidities in heart failure with preserved ejection fraction [J]. BMC Med, 2023, 21(1):267.
- [27] WAN G X, JI L H, XIA W B, et al. Bioinformatics identification of potential candidate blood indicators for doxorubicin-induced heart failure [J]. Exp Ther Med, 2018, 16(3):2534-2544.
- [28] SU J, HU Y, CHENG J, et al. Comprehensive analysis of the RNA transcriptome expression profiles and construction of the ceRNA network in heart failure patients with sacubitril/valsartan therapeutic heterogeneity after acute myocardial infarction [J]. Eur J Pharmacol, 2023, 944:175547.
- [29] HE J, YAO J, SHENG H, et al. Involvement of the dual-specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase 1A-alternative splicing factor-calcium/calmodulin-dependent protein kinase II δ signaling pathway in myocardial infarction-induced heart failure of rats [J]. J Card Fail, 2015, 21(9):751-760.
- [30] WANG Y, LI C, LIU Z, et al. Danqi pill protects against heart failure through the arachidonic acid metabolism pathway by attenuating different cyclooxygenases and leukotrienes B4 [J]. BMC Complement Altern Med, 2014, 14:67.
- [31] AOYAGI T, MATSUI T. Phosphoinositide-3 kinase signaling in cardiac hypertrophy and heart failure [J]. Curr Pharm Des, 2011, 17(18):1818-1824.
- [32] MOMMERSTEEG P M, SCHOEMAKER R G, EISEL U L, et al. Nitric oxide dysregulation in patients with heart failure: the association of depressive symptoms with L-arginine, asymmetric dimethylarginine, symmetric dimethylarginine, and isoprostane [J]. Psychosom Med, 2015, 77(3):292-302.
- [33] PREEDY M E J, BALIGA R S, HOBBS A J. Multiplicity of nitric oxide and natriuretic peptide signaling in heart failure

- [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2020, 75(5):370-384.
- [34] CUI J, ZHANG B, GAO M, et al. The protective effect of tetrahydroxystilbene glucoside on high glucose-induced injury in human umbilical vein endothelial cells through the PI3K/Akt/eNOS pathway and regulation of Bcl-2/Bax [J]. *J Vasc Res*, 2021, 58(5):301-310.
- [35] GAO W, GUO N, ZHAO S, et al. HTR2A promotes the development of cardiac hypertrophy by activating PI3K-PDK1-Akt-mTOR signaling [J]. *Cell Stress Chaperones*, 2020, 25(6):899-908.
- [36] MOHSENI Z, DERKSEN E, OBEN J, et al. Cardiac dysfunction after preeclampsia; An overview of pro- and anti-fibrotic circulating effector molecules [J]. *Pregnancy Hypertens*, 2021, 23:140-154.
- [37] XU X, XIE X, ZHANG H, et al. Water-soluble alkaloids extracted from *Aconiti Radix Lateralis Praeparata* protect against chronic heart failure in rats via a calcium signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 135:111184.
- [38] NGALULA S, CARLIN C R. TNF- α -driven changes in polarized EGF Receptor trafficking facilitate phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B signaling from the apical Surface of MDCK epithelial cells [J]. *Traffic*, 2025, 26(4/6):e70005.
- [39] LI H, FAN J, YIN Z, et al. Identification of cardiac-related circulating microRNA profile in human chronic heart failure [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(1):33-45.
- [40] LU Y, WANG D, ZHU Y, et al. A risk model developed based on necroptosis to assess progression for ischemic cardiomyopathy and identify possible therapeutic drugs [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13:1039857.
- [41] WU J, CAO J, FAN Y, et al. Comprehensive analysis of miRNA-mRNA regulatory network and potential drugs in chronic chagasic cardiomyopathy across human and mouse [J]. *BMC Med Genomics*, 2021, 14(1):283.
- [42] ZHANG Y, WANG Z, LAN D, et al. MicroRNA-24-3p alleviates cardiac fibrosis by suppressing cardiac fibroblasts mitophagy via downregulating PHB2 [J]. *Pharmacol Res*, 2022, 177:106124.
- [43] CHARRIER H, CUVELLIEZ M, DUBOIS-DERUY E, et al. Integrative system biology analyses identify seven microRNAs to predict heart failure [J]. *Noncoding RNA*, 2019, 5(1):22.
- [44] LIU S, LARSSON H, KUJA-HALKOLA R, et al. Age-related physical health of older autistic adults in Sweden: A longitudinal, retrospective, population-based cohort study [J]. *Lancet Healthy Longev*, 2023, 4(7):e307-e315.
- [45] LORSHEYD A, CRAMER M J, VELTHUIS B K, et al. Familial occurrence of isolated non-compaction cardiomyopathy [J]. *Eur J Heart Fail*, 2006, 8(8):826-831.
- [46] TSAI S Y, CHEN P H, HSIAO C Y, et al. Inflammation associated with left ventricular hypertrophy in bipolar disorder: A cross-sectional study [J]. *J Psychosom Res*, 2023, 173:111465.
- [47] DE OLIVEIRA C, MASON J, LUU L, et al. The PSY-SIM Model: Using real-world data to inform health care policy for individuals with chronic psychotic disorders [J]. *Schizophr Bull*, 2024, 50(5):1094-1103.
- [48] BLICKLE M, KLÜPFEL C, HOMOLA G A, et al. Heart rate variability, interoceptive accuracy and functional connectivity in middle-aged and older patients with depression [J]. *J Psychiatr Res*, 2024, 170:122-129.

[责任编辑 孙丛丛]