藏药莪达夏醇提物介导葡萄糖 -6- 磷酸脱氢酶干预低氧性肺动脉高压机制研究

何雨昕[1] 薛 华[1] 郭子旭[1] 白振忠[2] 曹学锋[2]
1.青海大学医学院,青海西宁 810001;2.青海大学高原医学研究中心,青海西宁 810001

[摘要] 目的 探讨藏药莪达夏(OFB)对低氧性肺动脉高压(HPH)的干预作用及机制。 **方法** 选取 130~150 g SPF 级雄性 SD 大鼠 60 只,按照随机数字表法将其分为空白组、造模组、红景天组、低剂量组、中剂量组、高剂量组,每组 10只。空白组大鼠饲养于青海大学 SPF 级实验动物房,其余 5 组大鼠饲养于青海大学低压氧舱构建 HPH 模型;红景天组灌胃红景天醇提物 200 mg/(kg·d),低、中、高剂量组分别灌胃 OFB 醇提物 100、200、400 mg/(kg·d),空白组及造模组灌胃生理盐水,持续 4 周。比较各组大鼠右心室收缩压(RVSP)及右心肥厚指数(RVHI);评估各组大鼠肺动脉重塑程度;Western blot 法及 RT-qPCR 检测各组大鼠葡萄糖 -6- 磷酸脱氢酶(G6PD)蛋白和 mRNA 表达;免疫组织化学染色法观察大鼠肺组织 G6PD 含量及分布;观察各组大鼠血清 G6PD 水平及肺组织 $NADP^+$/NADPH、总谷胱甘肽/氧化型谷胱甘肽(T-GSH/GSSG)、NADPH 氧化酶(NOX)变化。 **结果** 造模组 RVSP、RVHI 高于空白组($P<0.05$);低、中、高剂量组 RVSP、RVHI 低于造模组($P<0.05$);中剂量组 RVSP 高于低剂量组($P<0.05$);高剂量组 RVSP 低于中剂量组,RVHI 高于中剂量组($P<0.05$)。造模组血管壁面积占总血管面积的百分比(WA%)、血管壁厚度占血管外径的百分率(WT%)高于空白组($P<0.05$);低、中、高剂量组 WA%低于造模组($P<0.05$),中剂量组 WT%低于造模组($P<0.05$);中剂量组 WA%、WT%低于低剂量组($P<0.05$)。造模组肺泡周围小血管 G6PD 阳性面积占比低于空白组($P<0.05$);低、中、高剂量组肺泡周围小血管 G6PD 阳性面积占比低于造模组($P<0.05$);高剂量组肺泡周围小血管 G6PD 阳性面积占比高于低剂量组($P<0.05$)。造模组 G6PD 蛋白和 mRNA 表达低于空白组($P<0.05$);低、中、高 G6PD 蛋白和 mRNA 表达低于造模组($P<0.05$)。低剂量组肺组织 NOX 活力低于造模组($P<0.05$);中剂量组血清 G6PD 及肺组织 T-GSH/GSSG 水平低于造模组($P<0.05$);中剂量组血清 G6PD 水平低于低剂量组($P<0.05$);高剂量组肺组织 $NADP^+$/NADPH、T-GSH/GSSG 水平及 NOX 活力低于造模组($P<0.05$)。 **结论** 400 mg/kg 浓度 OFB 醇提物干预 HPH 效果最佳,其作用机制可能与下调 G6PD 减少磷酸戊糖途径下游信号传导有关。

[关键词] 莪达夏;葡萄糖-6-磷酸脱氢酶;磷酸戊糖途径;低氧性肺动脉高压;糖酵解
[中图分类号] R543.2;R363.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-7210(2025)01(a)-0001-08
DOI:10.20047/j.issn1673-7210.2025.01.01

Study on the mechanism of glucose-6-phosphate dehydrogenase intervention in hypoxic pulmonary hypertension mediated by the Tibetan medicine *Oxytropis falcata* Bunge alcohol extract

HE Yuxin[1] XUE Hua[1] GUO Zixu[1] BAI Zhenzhong[2] CAO Xuefeng[2]
1.Medical College, Qinghai University, Qinghai Province, Xining 810001, China; 2.Research Center for High Altitude Medicine, Qinghai University, Qinghai Province, Xining 810001, China

[Abstract] Objective To explore the interventional effect and mechanism of the Tibetan medicine *Oxytropis falcata* Bunge (OFB) on hypoxic pulmonary hypertension (HPH). **Methods** A total of 60 male SD rats weighing 130-150 g were selected, and they were divided into blank group, model group, Rhodiola group, low dose group, medium dose group, and high dose group, with 10 rats in each group. The rats in blank group were fed in the SPF experimental animal house of Qinghai University, and the other five groups were fed in the low- pressure oxygen chamber of Qinghai University to construct the HPH model. Rhodiola group was intragaically given 200 mg/(kg·d) of Rhodiola alcohol extract, low, medium, and high dose groups were intragaically given 100, 200 mg/(kg·d), and 400 mg/(kg·d) of OFB alcohol extract, respectively, and blank group and

[基金项目] 青海省科技计划项目(2023-ZJ-773)。
[作者简介] 何雨昕(1999.10-),女,青海大学医学院 2022 级病理学与病理生理学专业在读硕士研究生,主要从事高原病与高原低氧适应机制研究工作。
[通讯作者] 曹学锋(1979.9-),男,博士,副教授,主要从事高原病与高原低氧适应机制研究工作。

中国知网 https://www.cnki.net

model group were intragaically given normal saline for four weeks. Right ventricular systolic pressure (RVSP) and right ventricular hypertrophy index (RVHI) were compared in each group; the degree of pulmonary artery remodeling in each group was evaluated; Western blot and RT-qPCR were used to detect the expression of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) protein and mRNA in each group; the content and distribution of G6PD in rat lung tissues were observed by immunohistochemical staining; and the changes of serum G6PD level and lung tissues $NADP^+$/NADPH, total glutathione / oxidized glutathione (T-GSH/GSSG), and NADPH oxidase (NOX) were observed. **Results** RVSP and RVHI in model group were higher than those in blank group ($P<0.05$); RVSP and RVHI in low, medium, and high dose groups were lower than those in model group ($P<0.05$); RVSP of medium dose group was higher than that of low dose group ($P<0.05$); RVSP of high dose group was lower than that of medium dose group, while RVHI was higher than that of medium dose group ($P<0.05$). The percentage of vascular wall area to total vascular area (WA%) and percentage of vascular wall thickness to external vascular diameter (WT%) were higher than those of blank group ($P<0.05$); WA% of low, medium, and high dose groups were lower than those of model group ($P<0.05$); WT% of medium dose group was lower than that of model group ($P<0.05$); and WA% and WT% in medium dose group were lower than those in low dose group ($P<0.05$). The proportion of positive area of G6PD in perialveolar small vessels in model group was lower than that in blank group ($P<0.05$); the proportion of positive area of G6PD in perialveolar small vessels of rats in low, medium, and high dose groups were lower than those in model group ($P<0.05$); and the proportion of positive area of G6PD in perialveolar small vessels in high dose group was higher than that in low dose group ($P<0.05$). The expressions of G6PD protein and mRNA in model group were lower than those in blank group ($P<0.05$); and the expressions of G6PD protein and mRNA of low, middle, and high dose groups were lower than those in model group ($P<0.05$). The activity of lung tissues NOX in low dose group was lower than that in model group ($P<0.05$); the level of serum G6PD and lung tissues T-GSH/GSSG in medium dose group were lower than those in modeling group ($P<0.05$); the level of serum G6PD in medium dose group was lower than that in low dose group ($P<0.05$); the levels of lung tissue $NADP^+$/NADPH, T-GSH/GSSG, and the activity of NOX in high dose group were lower than those in model group ($P<0.05$). **Conclusion** The intervention effect of 400 mg/kg OFB ethanol extract on HPH is the best and its mechanism may be related to down-regulating G6PD to reduce the downstream signal of pentose phosphate pathway.

[Key words] *Oxytropis falcata* Bunge; Glucose-6-phosphate dehydrogenase; Pentose phosphate pathway; Hypoxic pulmonary hypertension; Glycolysis

低氧性肺动脉高压（hypoxic pulmonary hypertension，HPH）是一种严重的心血管疾病，其特征是缺氧引起肺血管持续性收缩和肺动脉不可逆性重塑，最终可致右心衰竭，甚至死亡。鉴于 HPH 的严重性和治疗手段的有限性，因而探寻干预 HPH 药物具有重要临床意义。现代研究显示，藏药莪达夏（*Oxytropis falcate* Bunge，OFB）中的黄酮类化合物具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤活性[1-3]。低氧条件下培养的肺动脉平滑肌细胞中，葡萄糖 -6- 磷酸脱氢酶（glucose-6-phosphate dehydrogenase，G6PD）表达显著增加[4]。课题组前期通过代谢组学和转录组学分析发现，OFB 提取物下调 G6PD 途径的中间代谢物和基因表达。本研究旨在探讨 OFB 是否通过调节 G6PD 途径干预 HPH。本研究首先构建 HPH 动物模型，通过 OFB 干预并结合分子生物学技术，揭示 OFB 对 HPH 的潜在干预机制，为开发新的 HPH 治疗方法提供重要的实验数据和理论依据。

1 对象与方法

1.1 实验动物

SPF 级 SD 雄性大鼠 60 只，约 5 周龄，130~150 g，购自北京维通利华实验动物技术有限公司，许可证号：SCXK（京）2021-0006，合格证号：NO.1101117127。本研究经青海大学科技伦理委员会审查并批准（PJ202401-51）。

1.2 药物及制备

1.2.1 药物　OFB 全草粉末（批号：T630602174）购自青海省藏医院；红景天饮片（批号：2008003）购自北京同仁堂中药饮片有限公司，所有药材均由青海省藏医院多杰才让主任药师鉴定。0.3%羧甲基纤维素钠和氨基甲酸乙酯（货号：C804625、U820333）购自上海麦克林生化科技股份有限公司；生理盐水（批号：B23121203）购自山东科伦药业有限公司。

1.2.2 OFB 醇提物的制备　将 OFB 全草粉末倒入 10 L 提取设备回流提取。药液比为 1:10，加入 95%乙醇，加热套温度设置为 75 ℃，每次提取时间 3 h，冷凝回流提取 3 次。弃去每次滤渣，将 3 次提取液混合倒入 50 L 旋蒸仪浓缩。浓缩完毕后，以 4 ℃，3 000 r/min 离心 5 min，离心半径为 10 cm，收集滤液于玻璃培养皿，80 ℃烘干机烘 4 h 至浸膏状，使用冻干机冻干成粉末状，用 50 ml 离心管分装，置入 -20 ℃冰箱备用[5]。药物浓

中国知网　https://www.cnki.net

度为 75.2 mg/g。

1.2.3 红景天醇提物的制备 红景天饮片粉碎成粉，以红景天:60%乙醇 =1:100 浸泡于 10 L 提取设备，75 ℃回流提取 3 次，每次 2 h。合并提取液，过滤，旋蒸浓缩，以 4 ℃，3 000 r/min 离心 5 min，收集滤液，装入玻璃培养皿，80 ℃干燥 4 h，收醇提浸膏，然后冻干成粉，用 50 ml 离心管分装，置入 -20 ℃冰箱冷藏备用[6-8]。药物浓度为 94.6 mg/g。

1.3 主要仪器与试剂

SD 大鼠 G6PD 酶联免疫吸附试验（enzyme linked immunosorbent assay，ELISA）试剂盒（货号：BY-ER330687）购自南京博研生物科技有限公司；NADH 氧化酶（NADH oxidase，NOX）比色法测试盒、总谷胱甘肽/氧化型谷胱甘肽（total glutathione/ oxidized glutathione，T-GSH/GSSG）比色法测试盒、$NADP^+$/NADPH 比色法测试盒（货号：E-BC-K806-M、E-BC-K097-M、E-BC-K803-M）购自武汉伊莱瑞特生物科技有限公司；DAB 试剂盒（货号：ZLI-9018）购自北京中杉金桥生物有限公司，G6PD、β-actin 多克隆兔一抗、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔二抗（货号：25413-1-AP、20536-1-AP、SA00001-2）购自武汉三鹰有限公司；BCA 蛋白浓度测定试剂盒（货号：P0009）购自上海碧云天生物技术有限公司。

组织包埋机（型号：BMJ-A）购自常州郊区中威电子仪器厂；低温研磨仪、数显水平摇床、低温高速组织研磨仪（型号：PW-600、DS-H200、KZ-III-F）购自武汉塞维尔生物科技有限公司；垂直电泳槽（型号：JY-SCZ4+）购自北京君意东方电泳设备有限公司。

1.4 实验分组及处理

大鼠适应性饲养 1 周后，将 60 只大鼠按照随机数字表法分为空白组，造模组，红景天组，低、中、高剂量组，每组 10 只。空白组大鼠饲养于青海大学 SPF 级实验动物房，温度为（22 ± 2）℃，湿度为（50 ± 10）%，光照 12 h 明暗交替，自由摄食；其余 5 组大鼠饲养于青海大学低压氧舱（贵州风雷航空军械有限责任公司，DYC3000），温度为（24 ± 2）℃，湿度为（55 ± 10）%，光照 12 h 明暗交替，自由饮食。

红景天组灌胃红景天醇提物 200 mg/（kg·d）[9-10]；低、中、高剂量组分别灌胃 OFB 醇提物 100、200、400 mg/（kg·d）[11-13]；空白组及造模组每日灌胃生理盐水，持续灌胃 4 周。所有药物均溶于 0.3%羧甲基纤维素钠。

1.5 样本处理

将纯度为 99%的氨基甲酸乙酯粉末溶于纯水，配置成 20%液体，按照大鼠体重，以 0.6 ml/100 g 浓度确定每只大鼠麻醉剂量。SD 大鼠麻醉后进行腹主动脉采血，血液采集后常温静置 2 h，然后以 4 ℃，3 000 r/min 离心 10 min，收集血清，分装后放入 -80 ℃冰箱备用。取血后立即取肺组织，用 1 倍浓度的 PBS 缓冲液漂洗，吸水纸吸干后，取右肺上叶放入 4%多聚甲醛溶液和 2.5%戊二醛溶液分别进行苏木精 - 伊红（hematoxylin-eosin，HE）染色和透射电镜观察。

1.6 观察指标

1.6.1 右心室收缩压（right ventricular systolic pressure，RVSP）及右心肥厚指数（right ventricular hypertrophy index，RVHI） 大鼠麻醉后固定头及四肢，剪开皮肤，经右颈静脉缓慢插管至右心室，波形稳定后记录大鼠 RVSP。剪开上腹，分离右心室、左心室和室间隔，RVHI= 右心室重量 /（左心室重量 + 室间隔重量）。

1.6.2 HE 染色 肺组织经脱水、包埋、切片后，依次进行如下操作：脱蜡液处理 2 次，每次 30 min；无水乙醇处理 2 次，每次 5 min；95%、85%和 75%酒精各处理 5 min；自来水冲洗 5 min；苏木精染色 5~10 min，自来水冲洗至无色；盐酸酒精溶液分化 3 s，自来水冲洗；弱碱性水溶液返蓝，自来水冲洗；伊红染色 3 min；梯度酒精脱水，透明剂透明，最后用中性树胶封固。切片经 HE 染色后观察各组大鼠肺动脉重塑程度，计算分析血管壁面积占血管总面积的百分率（percentage of vascular wall area to total vascular area，WA%）和血管壁厚度占血管外径的百分率（percentage of vascular wall thickness to external vascular diameter，WT%）。

1.6.3 透射电镜观察 样本经 2.5%戊二醛预固定后，1%四氧化锇再固定；丙酮脱水浓度梯度为 30%→50%→70%→80%→90%→95%→100%（100%浓度换 3 次）；用脱水剂和 Epon-812 包埋剂按照比例（3:1、1:1、1:3）依次渗透；使用 Epon-812 纯包埋剂包埋；通过半薄切片在光镜下观察，选取小动脉部位，用超薄切片机作 60~90 nm 超薄切片捞至铜网上；室温下先用醋酸铀染色 10~15 min，再用柠檬酸铅染色 1~2 min。

1.6.4 免疫组织化学染色 石蜡切片先脱蜡至水，再用柠檬酸盐缓冲液（pH=6.0）在微波炉中加热 2 次共 20 min。冷却后，PBS 冲洗，3%双氧水处理 10 min，PBS 冲洗。加入牛血清封闭液 20 min，然后滴加一抗，4 ℃孵育过夜。次日，PBS 冲洗后滴加二抗，37 ℃孵育 30 min。DAB 显色，苏木精复染，自来水和返蓝液冲洗。最后，梯度酒精脱水，二甲苯透明，中性树胶封片。使用 Halo 数据分析系统计算每张 400 倍图像阳性面积占比。

1.6.5 Western blot 法检测 G6PD 表达 将样本放入研磨管，加入研磨珠和 RIPA 裂解液（样本：裂解液=1:10），在 -20 ℃下研磨 4 次（每次 60 s）。4 ℃裂解 30 min 后，12 000 r/min 离心 10 min，取上清液用 BCA 法测蛋白浓度。电泳时浓缩胶 80 V，分离胶 120 V。转膜后，PVDF 膜用 5%脱脂牛奶封闭 1 h，随后在 4 ℃

中国知网 https://www.cnki.net

下一抗(G6PD 1∶2 000,β-actin 1∶4 000)孵育过夜。第2 天,1×TBST 洗膜 3 次(5 min/次),二抗(1∶5 000)室温孵育 1 h。最后洗膜，吸干后 ECL 显影液曝光，Gel-Pro analyzer 4 软件分析灰度值。

1.6.6 RT-qPCR 检测 G6PD 表达　取各组大鼠肺组织 100 mg,液氮下研磨充分,依次加入 1 ml Trizol 提取 RNA。提取完毕冰上立即反转成 cDNA,然后避光加样配置反应体系,加完样后离心混匀,按照说明书设置扩增条件。反应体系总体积 20 μl，包括 2× Universal SYBR Green Fast qPCR Mix 10 μl，模板 cDNA 2 μl,正向、反向引物各 0.4 μl,ddH_2O 7.2 μl;扩增条件:95 ℃预变性 3 min;95 ℃变性 5 s;60 ℃退火/延伸 34 s,循环 45 次;熔解曲线按仪器默认设置。引物信息见表 1。

表 1　引物信息

基因	序列(5'-3')	长度(bp)
G6PD	正向引物:CGAGGCCGTCACCAAGAAC	19
	反向引物:GTAGTGGTCGATGCGGTAGA	20
β-actin	正向引物:CATGTACGTTGCTATCCAGGC	21
	反向引物:CTCCTTAATGTCACGCACGAT	21

注 G6PD:葡萄糖 -6- 磷酸脱氢酶。

1.6.7 血清 G6PD 及肺组织 $NADP^+$/NADPH、T-GSH/GSSG、NOX 测定　按照 ELISA 法试剂盒说明书方法进行检测,在相应波长下检测各孔吸光度,并用 ELISA Calc 软件绘制标准曲线,计算每孔实际浓度。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 25.0 统计学软件进行数据分析，GraphPad Prism 10.1.2 软件作图。计量资料用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析，两两比较采用 LSD-t 检验;两组间比较采用独立样本 t 检验。计数资料用例数和百分率表示，比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠 RVSP、RVHI 比较

造模组 RVSP、RVHI 高于空白组($P<0.05$);低、中、高剂量组 RVSP、RVHI 低于造模组($P<0.05$);中剂量组 RVSP 高于低剂量组（$P<0.05$)；高剂量组 RVSP 低于中剂量组,RVHI 高于中剂量组($P<0.05$)。见图 1。

2.2 各组大鼠肺动脉重塑程度

造模组 WA%、WT%高于空白组($P<0.05$);低、中、高剂量组 WA%低于造模组($P<0.05$),中剂量组 WT%低于造模组($P<0.05$);中剂量组 WA%、WT%低于低剂量组($P<0.05$)。见图 2。

2.3 各组线粒体肿胀、内质网增生情况

透射电镜结果显示，造模组大鼠出现明显 HPH 肺动脉平滑肌细胞重塑,OFB 醇提物能缓解肺动脉平滑肌细胞增生。见图 3。

2.4 各组大鼠肺泡周围小血管 G6PD 阳性面积占比比较

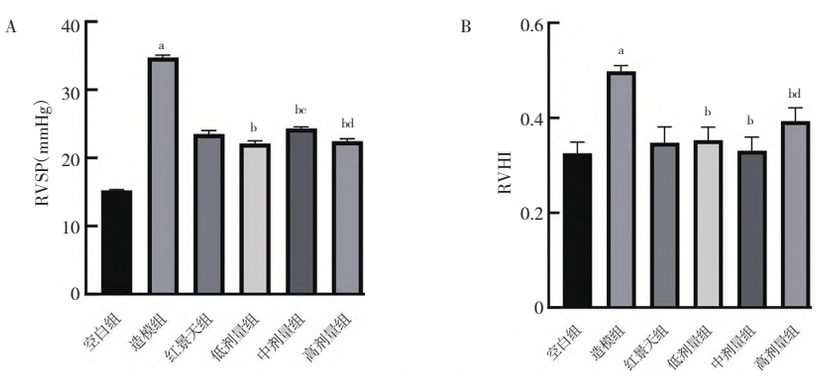
肺泡周围细小血管壁细胞核 G6PD 阴性表达呈现蓝色,阳性表达为棕黄色。造模组肺泡周围小血管 G6PD 阳性面积占比低于空白组($P<0.05$);低、中、高剂量组肺泡周围小血管 G6PD 阳性面积占比低于造模组($P<0.05$);高剂量组肺泡周围小血管 G6PD 阳性面积占比高于低剂量组($P<0.05$)。见图 4~5。

2.5 各组大鼠肺组织 G6PD 蛋白表达

造模组大鼠 G6PD 蛋白表达低于空白组($P<0.05$);低、中、高 G6PD 蛋白表达低于造模组($P<0.05$);中剂量组 G6PD 蛋白表达高于低剂量组（$P<0.05$);高剂量组 G6PD 蛋白表达高于低、中剂量组($P<0.05$)。见图 6。

2.6 各组大鼠 G6PD mRNA 表达比较

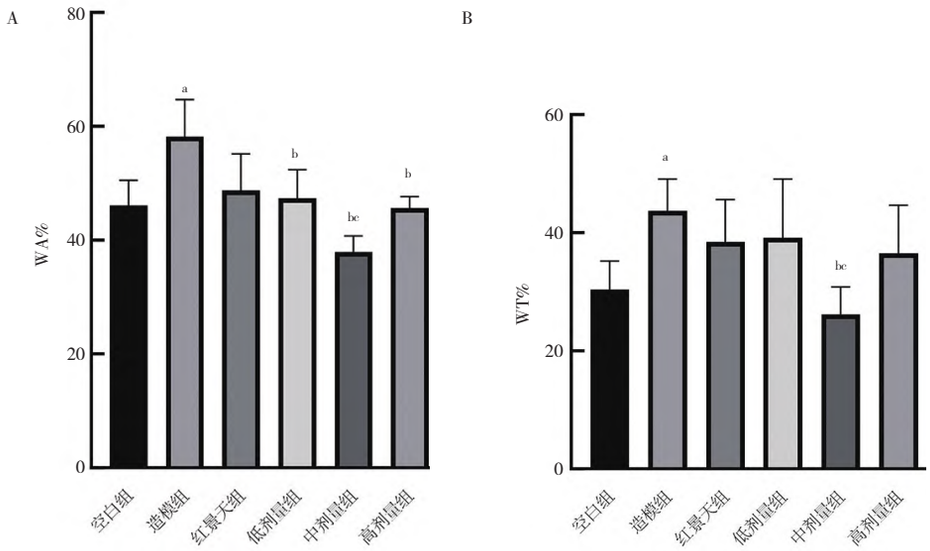
造模组大鼠 G6PDmRNA 表达低于空白组($P<0.05$);低、中、高剂量组 G6PD mRNA 表达低于造模组($P<$



A:各组大鼠 RVSP 比较;B:各组大鼠 RVHI 比较。与空白组比较,$^aP<0.05$;与造模组比较,$^bP<0.05$;与低剂量组比较,$^cP<0.05$;与中剂量组比较,$^dP<0.05$。RVSP:右心室收缩压;RVHI:右心肥厚指数。1 mmHg=0.133 kPa。

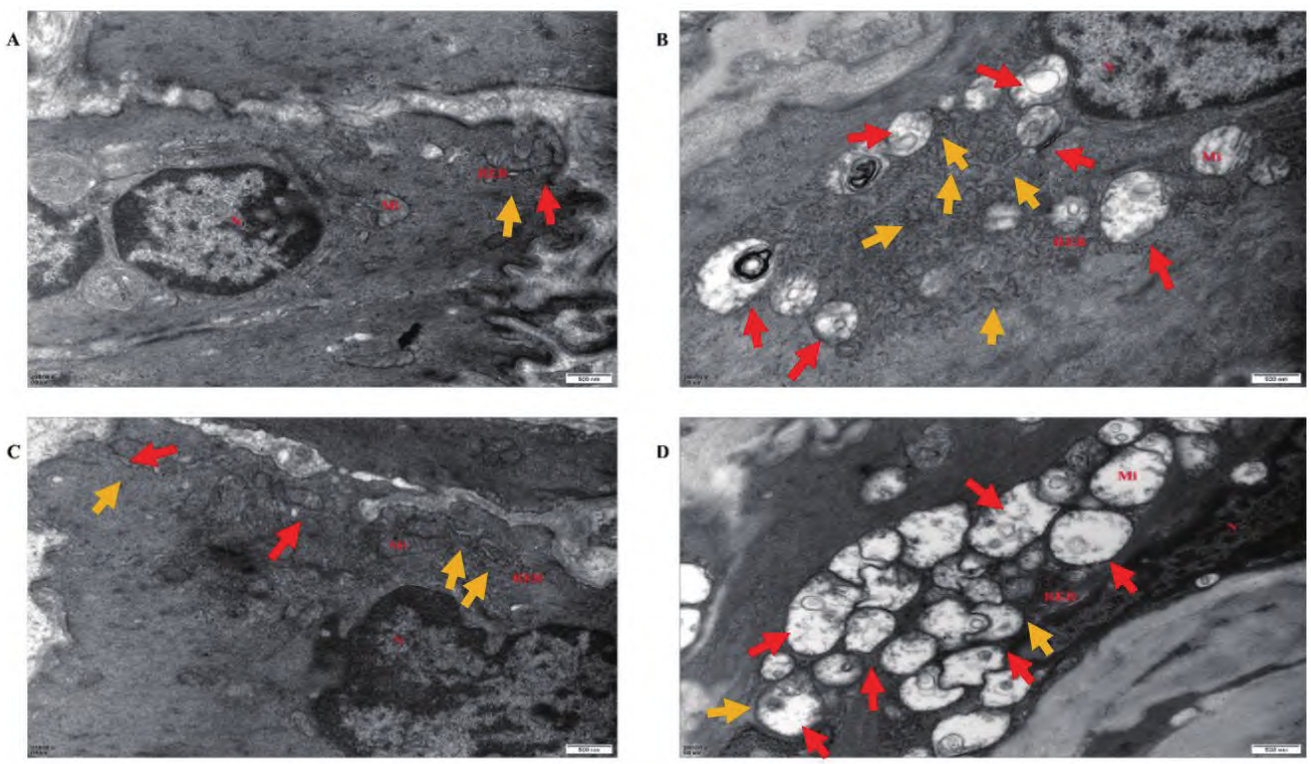
图 1　各组大鼠 RVSP、RVHI 比较(n=6)

中国知网　https://www.cnki.net



A:各组大鼠 WA%比较;B:各组大鼠 WT%比较。与空白组比较,$^aP<0.05$;与造模组比较,$^bP<0.05$;与低剂量组比较,$^cP<0.05$。WA%:血管壁面积占总血管面积的百分比;WT%:血管壁厚度占血管外径的百分率。

图 2 各组大鼠肺动脉重塑程度(n=6)



A:空白组肺动脉平滑肌细胞;B:造模组肺动脉平滑肌细胞;C:中剂量组肺动脉平滑肌细胞;D:红景天组肺动脉平滑肌细胞。N:细胞核;Mi:线粒体;RER:粗面内质网。红色箭头示线粒体;黄色箭头示粗面内质网。

图 3 线粒体肿胀、内质网增生情况(20 000×)

0.05)。见图 7。

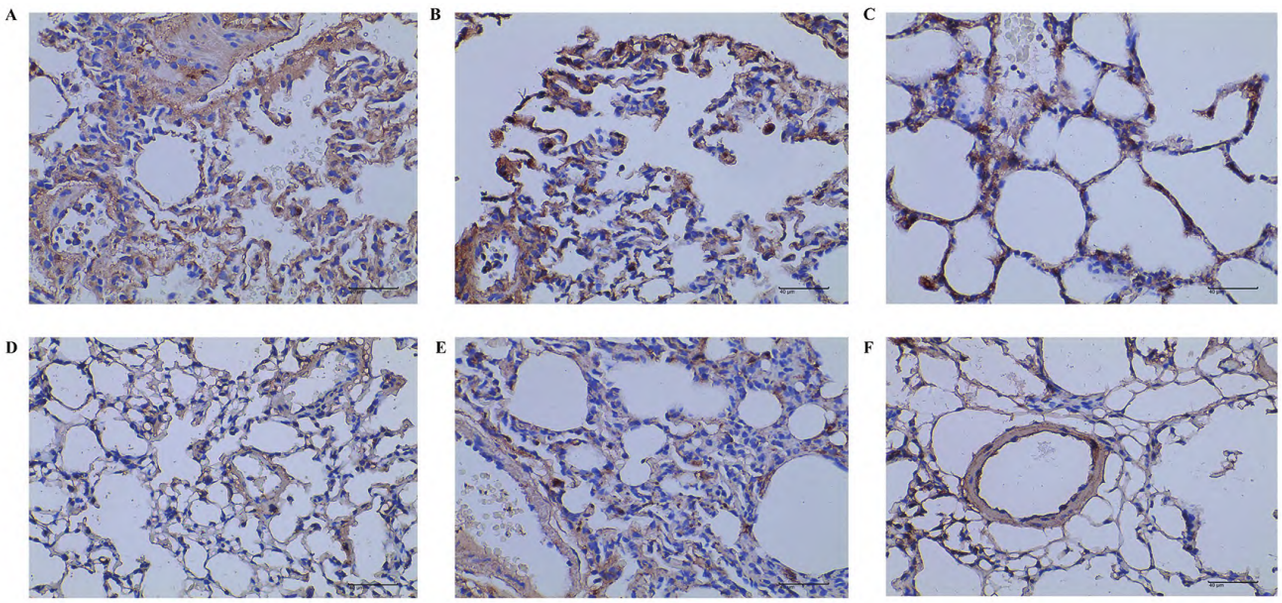
2.7 各组血清 G6PD 及肺组织 $NADP^+$/NADPH、T-GSH/GSSG、NOX 比较

低剂量组肺组织 NOX 活力低于造模组($P<0.05$);中剂量组血清 G6PD 及肺组织 T-GSH/GSSG 水平低于造模组($P<0.05$);中剂量组血清 G6PD 水平低于低剂量组($P<0.05$);高剂量组肺组织$NADP^+$/NADPH、T-GSH/GSSG 水平及 NOX 活力低于造模组($P<0.05$)。见图 8。

3 讨论

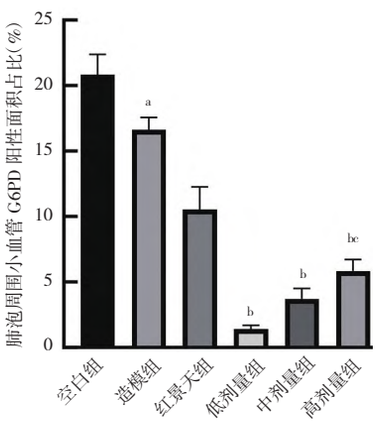
HPH 被称为心血管系统中的“癌症”,低氧诱导的肺动脉平滑肌细胞异常增殖是 HPH 发展中的关键环节。有研究显示,在肺动脉重塑过程中,血管细胞(包括内皮细胞、成纤维细胞和平滑肌细胞)会经历类

中国知网 https://www.cnki.net



A:空白组肺动脉平滑肌细胞;B:造模组肺动脉平滑肌细胞;C:红景天组肺动脉平滑肌细胞;D:低剂量组肺动脉平滑肌细胞;E:中剂量组肺动脉平滑肌细胞;F:高剂量组肺动脉平滑肌细胞。G6PD:葡萄糖 -6- 磷酸脱氢酶。

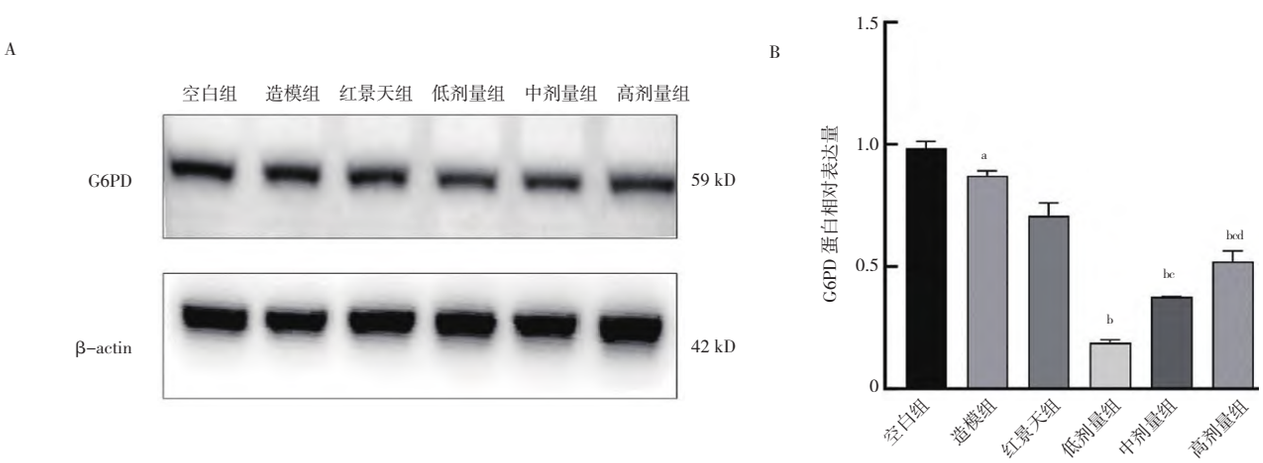
图 4　各组大鼠肺泡周围小血管 G6PD 表达情况(免疫组织化学染色,400×)



与空白组比较,$^{a}P<0.05$;与造模组比较,$^{b}P<0.05$;与低剂量组比较,$^{c}P<0.05$。G6PD:葡萄糖 -6- 磷酸脱氢酶。

图 5　各组大鼠肺泡周围小血管 G6PD 阳性面积占比比较(n=6)

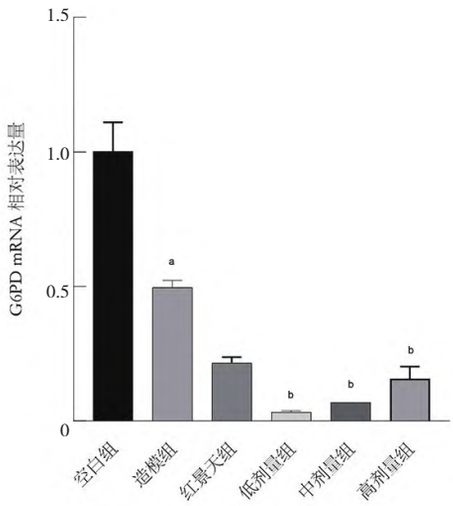
似于癌细胞 Warburg 效应的代谢变化,其代谢方式从高效的氧化磷酸化转变为较低效的糖酵解[14-15]。这种变化涉及糖酵解和磷酸戊糖途径(pentose phosphate pathway,PPP)中关键酶活性的增加,导致低效率的能量利用及活性氧生成失衡[16]。Luo 等[17]首次发现,抑制肺组织内皮细胞中的苹果酸酶 1 可以通过调节线粒体中的苹果酸 - 天冬氨酸 -NADH 穿梭机制,恢复 HPH 小鼠氧化磷酸化和糖酵解途径之间的平衡,从而改善细胞的能量代谢。考虑到脂肪酸在合成细胞膜中的核心作用,推测三羧酸循环上调可能导致乙酰辅酶 A 增加。乙酰辅酶 A 借助还原型 NADPH 提供的氢参与脂肪酸合成,这为肺动脉的重塑提供了必要的物质基础[18]。



A:蛋白条带图;B:各组大鼠肺组织 G6PD 蛋白表达柱状图(n=6)。与空白组比较,$^{a}P<0.05$;与造模组比较,$^{b}P<0.05$;与低剂量组比较,$^{c}P<0.05$;与中剂量组比较,$^{d}P<0.05$。G6PD:葡萄糖 -6- 磷酸脱氢酶。

图 6　各组大鼠肺组织 G6PD 表达

中国知网　https://www.cnki.net



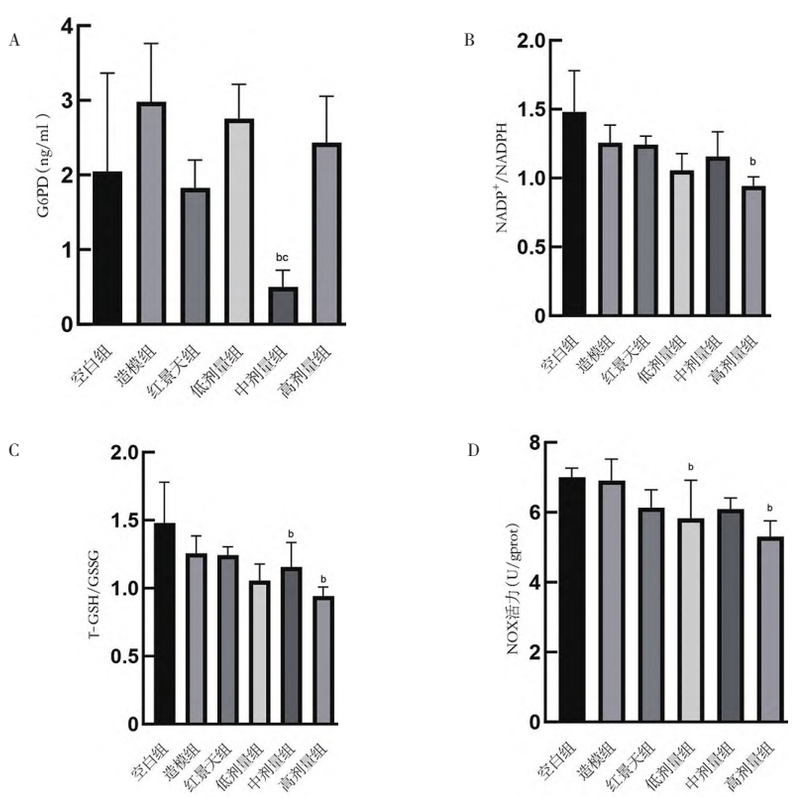
与空白组比较，$^{a}P<0.05$；与造模组比较，$^{b}P<0.05$。G6PD：葡萄糖 -6- 磷酸脱氢酶。

图 7 各组大鼠 G6PD mRNA 表达比较（n=6）

在 HPH 发展过程中，G6PD 表达水平上升[19-20]。G6PD 是 PPP 的限速酶，该反应生成核糖和 NADPH。HPH 引发肺动脉重塑时，血管细胞的增殖需要核糖作为原料，提示 PPP 的活跃可能是低氧条件下细胞增殖的关键因素之一。G6PD 的高表达通过 PPP 途径增加 NADPH 生成，降低活性氧水平，可能促进如多发性骨髓瘤细胞的增殖[21]。综上所述，G6PD 在 HPH 中的表达增加可能是通过 PPP 途径促进肺动脉细胞重塑，其机制涉及产物 NADPH 维持氧化还原稳态作用。本研究中造模组 G6PD 水平低于空白组，与相关研究结果不一致[4,19]。这可能与空白组所处的海拔高度、动物体内的复杂调控机制及可能存在的自发性肺动脉高压有关[19]。这一发现提示，G6PD 的调控可能受到多种因素的影响，包括环境氧张力和细胞内代谢状态。

在探讨 G6PD 表达的研究中，通常只关注了单一的平滑肌层细胞，而未充分考虑其他血管和肺间质细胞的作用；而本研究涵盖了更广泛的细胞类型，包括肺间质和血管内皮细胞。本研究假设，空白组大鼠中非平滑肌细胞的 G6PD 表达可能对整体组织的 G6PD 水平有着不可忽视的影响。这一发现强调了在评估肺组织 G6PD 的表达，必须考虑到不同细胞群体的相互作用和综合效应。本研究发现，OFB 醇提物处理的大鼠肺组织 G6PD 表达降低，提示 OFB 醇提物可能通过影响蛋白翻译后修饰，降低 G6PD 的表达[22-24]。进一步分析显示，高剂量组肺组织 $NADP^{+}$/NADPH、T-GSH/GSSG 水平及 NOX 活力低于造模组（$P<0.05$），其干预 HPH 效果最佳。提示 OFB 醇提物可能通过抑制 PPP 途径，减少 G6PD 的活性，从而对 HPH 的代谢紊乱产生调节作用[25]。总而言之，OFB 醇提物不仅显示出对肺组织的保护作用，而且还可能通过调节关键的糖代谢途径，为 HPH 的治疗提供了新的视角[17]。

综上所述，OFB 醇提物具有降低 HPH 的潜力，400 mg/kg 浓度的 OFB 醇提物效果最佳，其作用机制



与造模组比较，$^{b}P<0.05$；与低剂量组比较，$^{c}P<0.05$。G6PD：葡萄糖 -6- 磷酸脱氢酶；T-GSH/GSSG：总谷胱甘肽 / 氧化型谷胱甘肽；NOX：NADPH 氧化酶。

图 8 各组血清 G6PD 及组织 $NADP^{+}$/NADPH、T-GSH/GSSG、NOX 比较（n=6）

中国知网 https://www.cnki.net

可能是通过下调 G6PD 来减少 PPP 途径下游信号传导。鉴于 OFB 醇提物在本研究中干预 HPH 的有效作用，以及对于 OFB 醇提物干预 HPH 的具体成分或活性部位未探明，这也是本课题组在后续的实验和研究中重点予以讨论和阐明的部分，以期为开发藏药治疗高原特发疾病提供更加坚实的理论和实验依据。

利益冲突声明：本文所有作者均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

[1] 王彦君，明海霞. 镰形棘豆主要成分及生物学活性研究进展[J]. 中华中医药学刊，2021，39(10)：108-111.

[2] 陈锦珊，杨钦磊，刘晓玲，等. 藏药镰形棘豆的化学成分、药理作用及毒理学研究进展[J]. 中国药房，2016，27(28)：3945-3948.

[3] 杨钦磊，韩秋惠. 藏药镰形棘豆的有效成分及临床应用的研究[J]. 海峡药学，2019，31(12)：46-49.

[4] CHETTIMADA S，GUPTE R，RAWAT D，*et al*. Hypoxia-induced glucose-6-phosphate dehydrogenase overexpression and-activation in pulmonary artery smooth muscle cells：implication in pulmonary hypertension [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol，2015，308(3)：L287-L300.

[5] 元王涛. 藏药莪达夏改善大鼠心肌缺血再灌注损伤入血活性成分分析研究[D]. 西宁：青海大学，2017.

[6] 郭娜，张宇婷，张颖智，等. 响应面法优化红景天苷提取工艺研究[J]. 粮食与油脂，2021，34(12)：103-107.

[7] 刘素欣，张露，崔承弼. 红景天提取物的降血糖作用研究[J]. 延边大学农学学报，2020，42(2)：21-26.

[8] 张余. 大株红景天化学成分与抗氧化活性研究[D]. 长春：吉林大学，2022.

[9] 赵白信，于慧娟，焦方杰，等. 红景天苷对低氧性肺动脉高压小鼠心功能的影响[J]. 中医学报，2022，37(4)：837-843.

[10] 马小冬. 唐古特红景天抗低氧性肺动脉高压活性部位的血清药物化学研究[D]. 西宁：青海大学，2018.

[11] 王彦君，李杨，王雪林，等. 镰形棘豆总黄酮对特发性肺纤维化大鼠的影响[J]. 中成药，2023，45(5)：1629-1633.

[12] 杨丽霞，王志程，李雪英，等. 镰形棘豆总黄酮对糖尿病 KKAy 小鼠血脂及瘦素、脂联素、抵抗素的影响[J]. 中医研究，2016，29(4)：61-63.

[13] 杨丽霞，范强，姜良恩，等. 镰形棘豆总黄酮对 3T3-Ll 脂肪细胞胰岛素抵抗模型炎症因子的作用[J]. 中医研究，2017，30(1)：66-70.

[14] HUANG H，WU F，YANG J，*et al*. Increased Plasma Level of miR-210 as a Potential Diagnostic Marker for Chronic Obstructive Pulmonary Disease Induced Pulmonary Hypertension [J]. Clin Lab，2020，66(6). DOI：10.7754/Clin.Lab.2019.190813.

[15] XU W，ERZURUM S C. Endothelial cell energy metabolism，proliferation，and apoptosis in pulmonary hypertension [J]. Comp Physiol，2011，1(1)：357-372.

[16] D'ALESSANDRO A，EL KASMI K C，PLECITÁ-HLAVATÁ L，*et al*. Hallmarks of Pulmonary Hypertension：Mesenchymal and Inflammatory Cell Metabolic Reprogramming [J]. Antioxid Redox Signal，2018，28(3)：230-250.

[17] LUO Y，QI X，ZHANG Z，*et al*. Inactivation of Malic Enzyme 1 in Endothelial Cells Alleviates Pulmonary Hypertension [J]. Circulation，2024，149(17)：1354-1371.

[18] ICARD P，SHULMAN S，FARHAT D，*et al*. How the Warburg effect supports aggressiveness and drug resistance of cancer cells? [J]. Drug Resist Updat，2018，38：1-11.

[19] VARGHESE M V，JAMES J，RAFIKOVA O，*et al*. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency contributes to metabolic abnormality and pulmonary hypertension [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol，2021，320(4)：L508-L521.

[20] HASHIMOTO R，GUPTE S. Pentose Shunt，Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase，NADPH Redox，and Stem Cells in Pulmonary Hypertension [J]. Adv Exp Med Biol，2017，967：47-55.

[21] LI R，KE M，QI M，*et al*. G6PD promotes cell proliferation and dexamethasone resistance in multiple myeloma *via* increasing anti-oxidant production and activating Wnt/β-catenin pathway [J]. Exp Hematol Oncol，2022，11(1)：77.

[22] AI G，DACHINENI R，KUMAR D R，*et al*. Aspirin inhibits glucose 6 phosphate dehydrogenase activity in HCT 116 cells through acetylation：Identification of aspirin-acetylated sites [J]. Mol Med Rep，2016，14(2)：1726-1732.

[23] ZHANG X，GAO F，AI H，*et al*. TSP50 promotes hepatocyte proliferation and tumour formation by activating glucose-6-phosphate dehydrogenase（G6PD）[J]. Cell Prolif，2021，54(4)：e13015.

[24] 王义平. 葡萄糖六磷酸脱氢酶 G6PD 的乙酰化调控及其在氧化应激过程中的作用和分子机制[D]. 上海：复旦大学，2016.

[25] BOEHME J，SUN X，TORMOS K V，*et al*. Pulmonary artery smooth muscle cell hyperproliferation and metabolic shift triggered by pulmonary overcirculation [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol，2016，311(4)：H944-H957.

（收稿日期：2024-08-29）

中国知网　https://www.cnki.net