

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2026.04.009

✦基础医学研究✦

# 基于 TGF- $\beta$ /BMP 信号通路探讨达格列净对左心衰竭相关肺动脉高压大鼠的作用及机制

李娜, 李倩, 宋蓓, 王秀粉, 宫丽华

(邯郸市第一医院药学部, 河北 邯郸 056000)

**【摘要】目的:** 探究达格列净通过调节骨形态发生蛋白(BMP)/转化生长因子  $\beta$ (TGF- $\beta$ )信号通路对左心衰竭相关肺动脉高压(PH-LHF)大鼠肺血管重构及心功能的影响。**方法:** 通过行主动脉弓缩窄(TAC)手术建立 PH-LHF 大鼠模型。将大鼠随机分为假手术组、模型组、低剂量组(灌胃 1 mg/kg 的达格列净溶液)、高剂量组(灌胃 3 mg/kg 的达格列净溶液)和通路激活剂组(灌胃 3 mg/kg 的达格列净+10 mg/kg 的 TGF- $\beta$  通路激活剂 SRI-011381), 每组各 15 只。治疗结束后, 采用超声心动检测仪检测各组大鼠右心室收缩压(RVSP)和左心室射血分数(LVEF); 右心导管检测大鼠肺动脉高压; 苏木精-伊红(HE)染色评估肺小动脉病理变化并评估血管壁厚度比率(WT)和血管壁面积比率(WA); 维多利亚蓝染色和范吉森染色观察大鼠肺组织血管病变; 酶联吸附免疫测定(ELISA)试剂盒检测血清中层黏连蛋白(LN)、透明质酸(HA)、TGF- $\beta$ 1 和羟脯氨酸(HYP)水平; Western Blot 法检测 TGF- $\beta$ /BMP 通路相关蛋白表达水平。**结果:** 相较于假手术组, 模型组肺小动脉管壁增厚, 管腔变窄, 肺组织气管上皮脱落、大肺泡融合以及血管周围炎症, RVSP、平均肺动脉压(mPAP)、平均右心室压(mRVP)、WT 比例、WA 比率、胶原纤维、LN、HA、HYP、TGF- $\beta$ 1、p-Smad1、p-Smad2、p-Smad3 水平升高( $P < 0.05$ ), LVEF、弹性纤维、骨形态发生蛋白受体 II 型(BMPR2)水平降低( $P < 0.05$ ); 相较于模型组, 低剂量组、高剂量组和通路激活剂组大鼠肺小动脉管壁变薄, 管腔变宽, 细支气管和血管周围炎症、以及大肺泡融合方面有所改善, RVSP、mPAP、mRVP、WT 比例、WA 比率、胶原纤维、LN、HA、HYP、TGF- $\beta$ 1、p-Smad1、p-Smad2、p-Smad3 水平降低( $P < 0.05$ ), LVEF、弹性纤维、BMPR2 水平升高( $P < 0.05$ ); 高剂量组上述指标结果优于低剂量组( $P < 0.05$ ), 具有剂量依赖性; 相较于高剂量组, 通路激活剂组大鼠 RVSP、mPAP、mRVP、WT 比例、WA 比率、胶原纤维、LN、HA、HYP、TGF- $\beta$ 1、p-Smad1、p-Smad2、p-Smad3 水平升高( $P < 0.05$ ), LVEF、弹性纤维、BMPR2 水平降低( $P < 0.05$ )。**结论:** 达格列净能够改善 PH-LHF 大鼠肺血管重构和心功能, 减轻肺纤维化程度, 机制可能与抑制 TGF- $\beta$ /BMP 信号通路有关。

**【关键词】** 达格列净; 左心衰竭; 肺动脉高压; TGF- $\beta$ /BMP 信号通路; 肺血管重构

**【中图分类号】** R542.2; R972 **【文献标志码】** A

## Effect and mechanism of dapagliflozin on rats with pulmonary hypertension related to left heart failure based on the TGF- $\beta$ /BMP signaling pathway

LI Na, LI Qian, SONG Bei, WANG Xiu-fen, GONG Li-hua

(Department of Pharmacy, Handan First Hospital, Handan 056000, Hebei, China)

**【Abstract】Objective:** To explore the effect of dapagliflozin on Pulmonary hypertension related to left heart failure (PH-LHF) on pulmonary vascular remodeling and cardiac function in rats by regulating the bone morphogenetic protein (BMP)/transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) signaling pathway. **Methods:** The PH-LHF rat model was established by performing transverse aortic constriction (TAC) surgery. Rats were randomly divided into sham operation group, model group, low-dose group (intra-gastric administration of 1 mg/kg dapagliflozin solution), high-dose group (intra-gastric administration of 3 mg/kg dapagliflozin solution), and pathway activator group (intra-gastric administration of 3 mg/kg dapagliflozin + 10 mg/kg TGF- $\beta$  pathway activator SRI-011381), with 15 rats in each group. After the treatment was completed, the right ventricular systolic blood pressure (RVSP) and left ventricular ejection fraction (LVEF) of rats in each group were detected by using the superbirth cardiac detector. Pulmonary arterial hypertension in rats was detected by right heart catheterization. Haematoxylin and eosin (HE) staining was used to evaluate the pathological changes of pulmonary arterioles and to assess the Wall thickness ratio (WT) and Vascular area ratio (WA) of the vessels. Victoria blue staining and Van Giessen staining were used to observe vascular lesions in rat lung tissue. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits were used to detect the levels of serum

基金项目: 河北省邯郸市科学技术研究与发展计划项目(23422083248)

作者简介: 李娜(1988—), 女, 主管药师。E-mail: m13437701839@163.com

laminin (LN), hyaluronic acid (HA), transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1), and hydroxyproline (HYP). The expression levels of TGF- $\beta$ /BMP pathway-related proteins were detected by Western Blot. **Results:** Compared with the sham operation group, in the model group, the walls of the pulmonary arterioles thickened, the lumen narrowed, the tracheal epithelium of the lung tissue exfoliated, large alveoli fused, and perivascular inflammation occurred. RVSP, mean pulmonary artery pressure (mPAP), mean right ventricular pressure (mRVP), WT ratio, WA ratio, collagen fiber, LN, HA, HYP, TGF- $\beta$ 1, p-Smad1, p-Smad2, and p-Smad3 increased ( $P < 0.05$ ), while LVEF, elastic fiber, and bone morphogenetic protein receptor type II (BMPR2) decreased ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, the walls of pulmonary arterioles in rats in the low-dose group, high-dose group and pathway activator group became thinner, the lumen became wider, and there were improvements in inflammation around the bronchioles and blood vessels, as well as fusion of large alveoli. RVSP, mPAP, mRVP, WT ratio, WA ratio, collagen fiber, LN, HA, HYP, TGF- $\beta$ 1, p-Smad1, p-Smad2, and p-Smad3 were decreased ( $P < 0.05$ ), while LVEF, elastic fiber, and BMPR2 were increased ( $P < 0.05$ ). The results for the aforementioned indicators in the high-dose group were superior to those in the low-dose group ( $P < 0.05$ ), exhibiting a dose-dependent relationship. Compared with the high-dose group, the proportions of RVSP, mPAP, mRVP, WT ratio, WA ratio, collagen fibers, LN, HA, HYP, TGF- $\beta$ 1, p-Smad1, p-Smad2, and p-Smad3 in the pathway activator group were increased ( $P < 0.05$ ), LVEF, elastic fiber and BMPR2 decreased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Dapagliflozin can improve pulmonary vascular remodeling and cardiac function in PH-LHF rats and reduce the degree of pulmonary fibrosis. The involved mechanism of action may be related to the inhibition of the TGF- $\beta$ /BMP signaling pathway.

**【Key words】** Dapagliflozin; Left heart failure; Pulmonary arterial hypertension; TGF- $\beta$ /BMP signaling pathway; Pulmonary vascular remodeling

左心衰竭相关肺动脉高压 (pulmonary hypertension due to left heart disease, PH-LHF) 是心力衰竭过程中的常见并发症, 其病理特征以肺血管重构为核心, 表现为肺小动脉平滑肌细胞异常增殖、细胞外基质过度沉积及血管壁增厚, 最终导致肺循环阻力升高和右心功能衰竭, 显著提高患者的致残率与死亡率<sup>[1]</sup>。肺血管重构不仅是 PH-LHF 发生发展的关键环节, 更是连接左心功能异常与右心负荷加重的核心病理桥梁, 其分子机制的阐明对寻找针对性治疗靶点具有重要意义。转化生长因子- $\beta$  (transforming growth factor - $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 与骨形态发生蛋白 (bone morphogenetic protein, BMP) 信号通路在肺血管重构中具有重要调控作用。TGF- $\beta$ 1 作为促纤维化的核心因子, 通过激活 TGF- $\beta$  受体/Smad2/3 信号轴, 诱导血管平滑肌细胞向肌成纤维细胞转化, 促进 I 型胶原、纤维连接蛋白等细胞外基质成分的合成与沉积, 并抑制平滑肌细胞凋亡, 最终导致血管壁增厚和管腔狭窄<sup>[2-3]</sup>。而 BMP 及其受体骨形态发生蛋白受体 II 型 (bone morphogenetic protein receptor type II, BMPR2) 通过激活 Smad1/5/8 信号通路, 发挥抗血管重构作用<sup>[4]</sup>。达格列净作为钠-葡萄糖协同转运蛋白 2 抑制剂, 通过改善心肌能量代谢和减轻心脏负荷, 改善大鼠心力衰竭<sup>[5]</sup>。然而, 其对 PH-LHF 的干预效应是否涉及肺血管重构的调控, 尤其是在 TGF- $\beta$ /BMP 信号通路平衡中的作用尚不明确。因此, 本研究通过构建左心衰竭相关肺动脉高压大鼠模型, 观察达格列净对肺血管结构重塑的改善作用, 并从 TGF- $\beta$ 1/BMP 信号通

路, 探讨其潜在分子机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

于北京维通达生物技术有限公司购入 85 只 8~9 周龄雄性 SD 大鼠 (SPF 级, 体质量 210~230 g), 生产许可编号: SCXK(京)2023-0014。实验前将动物饲养于湿度温度适宜的环境中, 阴暗光照各 12 h, 实验期间大鼠可自由采食和饮水。适应性饲养 1 周后用于正式实验。本试验均获得本院动物试验中心动物伦理委员会批准 (20241109)。

### 1.2 主要试剂与仪器

达格列净片 (规格: 5 mg, 批准文号: 国药准字 H20233762) 购自江苏豪森药业集团有限公司; 苏木素伊红 (haematoxylin and eosin, HE) 染色试剂盒购自碧云天生物, 批号 C0105S; 维多利亚蓝弹力纤维染色液购自雷根生物, 批号 DC0068; 石蜡切片弹性纤维 (ELASTIC) 伟郝夫范吉森 (Verhoeff-VanGieson) 染色试剂盒购自上海哈灵生物科技有限公司, 批号 HL80012.3; 大鼠层黏连蛋白 (serum laminin, LN) ELISA 试剂盒购自酶联生物, 批号 ml868874; 大鼠透明质酸 (hyaluronic acid, HA) 酶联吸附免疫测定 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒购自科鹿生物技术有限责任公司, 批号 ELK10903; 大鼠 TGF- $\beta$ 1 ELISA 试剂盒购自碧云天生物, 批号 PT878; 大鼠羟脯氨酸 (hydroxyproline, HYP) ELISA 试剂盒购自上海朗顿生物科技有限公司, 批号 BPE30191; p-Smad2/3

(兔抗)、Smad2/3(兔抗)、p-Smad1(兔抗)、Smad1(兔抗)、BMP2(兔抗)抗体及甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体均购自美国 CST,批号分别为#8828、#5678、#13820、#9743、#6979和#97166; TGF- $\beta$ 1(兔抗)购自武汉三鹰生物公司,批号21898-1-AP;超生心动图仪购自上海玉研科学仪器有限公司,型号:X5彩色多普勒超声成像仪;MSHOT明美荧光显微镜购自广州市明美光电技术有限公司;WPB PLT-UNR-RT-2型动物肺功能测试系统购自法国EMKA公司。

### 1.3 模型构建及干预

随机数字表法选择15只正常大鼠作为假手术组;另选70只大鼠作为造模组。造模组采用主动脉弓缩窄(transverse aortic constriction, TAC)术构建左心衰竭相关肺动脉高压(pulmonary hypertension related to heart failure, HF-PH)模型<sup>[6]</sup>。具体步骤如下:腹腔注射40 mg/kg戊巴比妥麻醉大鼠,将大鼠仰卧固定,行气管插管后,以4~6 mL/200 g潮气量、70次/min频率及1:1呼吸比实施机械通气。术区消毒备皮,于左胸部作切口,钝性分离胸大肌、胸小肌暴露肋骨。在左胸骨旁第2~3肋间作约1.0 cm水平切口,暴露主动脉弓。以弯镊于右无名动脉与左颈总动脉间挑起主动脉弓,穿入2-0丝线后,将直径1.6 mm钝头针置于主动脉旁,结扎后迅速移除针头,复位胸腺。关闭胸腔并缝合皮肤。术后利用大鼠尾部测量仪监测心率及血压。假手术组大鼠操作过程同造模组,但不结扎主动脉弓。若超声提示左心室肥厚或HE染色显示血管壁厚度比率(wall thickness ratio, WT)、血管壁面积比率(vascular area ratio, WA)升高 $\geq 30\%$ ,左室收缩功能不全(LVEF $\leq 60\%$ ),同时肺动脉压升高,说明造模成功。

共有60只大鼠成功造模,将造模成功的大鼠随机分为模型组、低剂量组、高剂量组和通路激活剂组,每组各15只。低剂量组、高剂量组分别给予1、3 mg $\cdot$ kg<sup>-1</sup> $\cdot$ d<sup>-1</sup>达格列净溶液灌胃,持续5周<sup>[7]</sup>。通路激活剂组先连续7 d灌胃3 mg $\cdot$ kg<sup>-1</sup> $\cdot$ d<sup>-1</sup>的达格列净联合10 mg $\cdot$ kg<sup>-1</sup> $\cdot$ d<sup>-1</sup>的TGF- $\beta$ 1通路激活剂SRI-011381灌胃处理<sup>[8]</sup>,后续其余时间则灌胃等体积生理盐水。假手术组和模型组全程仅灌胃等体积生理盐水。

### 1.4 心脏超声检测心功能相关指标

药物治疗结束后,用4%的戊巴比妥钠(30 mg/kg)将各组大鼠麻醉,采用超生心动检测仪测量大鼠右

心室收缩压(right ventricular systolic blood pressure, RVSP)和左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)。每只重复测量三次。

### 1.5 右心导管检测肺动脉高压

超声心动图检测结束后,将各组大鼠以30 mg/kg戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,随后给予400 U肝素进行肝素化。采用肝素生理盐水预冲洗2 F聚乙烯(polyethylene, PE)导管,将其连接压力换能器并接入Power Lab多道生理记录仪,完成系统零点校准。借助Lab Chart 8.0数据采集系统,同步记录大鼠体表心电图与压力波形。通过右心导管技术,精确测定并分析平均肺动脉压(mean pulmonary artery pressure, mPAP)和平均右心室压(mean right ventricular pressure, mRVP)指标。

### 1.6 样本收集

治疗结束后,过量麻醉并处死大鼠。采集各组大鼠腹主动脉血液用于ELISA实验;采集大鼠肺组织用于HE染色、维多利亚蓝染色和范吉森染色和Western blot分析。

### 1.7 HE染色

取大鼠右肺下叶组织,4%多聚甲醛固定,石蜡包埋切片,行HE染色。高倍镜下观察肺小动脉病理改变,采用Image-Pro软件分析WT和WA。

### 1.8 维多利亚蓝染色和范吉森染色观察大鼠肺组织血管病变

维多利亚蓝弹性纤维染色:切片用田中氧化剂(A1:A2=1:1,新配制,4℃避光保存)氧化5 min,再用田中漂白剂漂白至氧化剂颜色消失。浸入维多利亚蓝染色液24 h,核快红复染细胞核5~10 min。常规脱水、透明化和封片。范吉森胶原纤维染色:维多利亚蓝染色后的切片用改良哈里斯苏木精溶液染色3 min,0.5%盐酸乙醇分化几秒。快绿溶液染色4 min,1%醋酸洗涤2 min。常规脱水、二甲苯透明化及封片。

### 1.9 ELISA试剂盒检测血清中肺纤维化相关指标

将采集的血液经静置离心分离得到血清,按照ELISA试剂盒检测大鼠血清中LN、HA、TGF- $\beta$ 1和HYP水平。步骤如下:设置空白孔、标准品孔及样本孔,分别加入对应试剂。37℃温育后洗板3次,各孔加入生物素化抗体工作液,再次温育洗板。加入HRP-链霉亲和素工作液,37℃温育洗板后,每孔加底物溶液显色,15 min后加终止液终止反应。使用酶标仪在450 nm波长处测定各孔吸光度,根据标准曲线计算血清中LN、HA、TGF- $\beta$ 1及HYP含量。

### 1.10 Western blot 分析 TGF-β/BMP 信号通路相关蛋白表达水平

取保存的肺组织充分研磨,加入组织裂解液,将研磨好的组织匀浆离心吸取上清,上清液即为组织蛋白,二辛可宁酸试剂盒测定蛋白浓度。随后进行聚丙烯酰胺凝胶电泳、转膜,室温封闭,4 °C 条件下将 TGF-β1、BMPR2、p-Smad2/3、Smad1、p-Smad2、Smad2、p-Smad3、Smad3 及 GAPDH 一抗 4 °C 孵育过夜(1:1 000),室温条件下孵育二抗(1:3 000),显影。以 GAPDH 为内参。采用 Image J 软件进行蛋白条带灰度分析。

### 1.11 统计学分析

使用 SPSS 25.0 统计软件进行数据分析。数值变量以( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用 ANOVA 进行多组间比

较,再以 SNK-*q* 检验进行两两比较。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 达格列净对 PH-LHF 大鼠心功能指标的影响

相较于假手术组,模型组大鼠 RVSP 水平升高( $P < 0.05$ ),LVEF 水平降低( $P < 0.05$ );相较于模型组,低剂量组、高剂量组和通路激活剂组大鼠 RVSP 水平降低( $P < 0.05$ ),LVEF 水平升高( $P < 0.05$ );相较于低剂量组,高剂量组大鼠 RVSP 水平降低( $P < 0.05$ ),LVEF 水平升高( $P < 0.05$ );相较于高剂量组,通路激活剂组大鼠 RVSP 水平升高( $P < 0.05$ ),LVEF 水平降低( $P < 0.05$ )。见图 1。

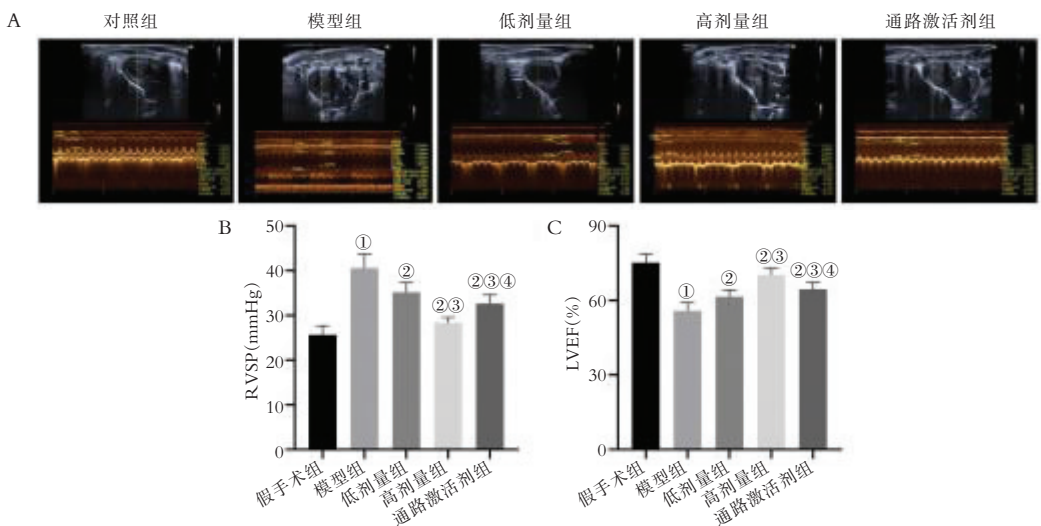


图 1 各组大鼠心功能指标比较

A. 各组超声心动图;B. 各组大鼠 RVSP 水平比较;C. 各组大鼠 LVEF 水平比较。① $P < 0.05$ ,与假手术组相比;② $P < 0.05$ ,与模型组相比;③ $P < 0.05$ ,与低剂量组相比;④ $P < 0.05$ 与高剂量组相比。

### 2.2 达格列净对 PH-LHF 大鼠肺动脉高压的影响

相较于假手术组,模型组大鼠 mPAP、mRVP 水平升高( $P < 0.05$ );相较于模型组,低剂量组、高剂量组和通路激活剂组大鼠 mPAP、mRVP 水平降低( $P < 0.05$ );相较于低剂量组,高剂量组大鼠 mPAP、mRVP 水平降低( $P < 0.05$ );相较于高剂量组,通路激活剂组大鼠 mPAP、mRVP 水平升高( $P < 0.05$ )。见图 2。

### 2.3 达格列净对 PH-LHF 大鼠肺小动脉组织病理形态的影响

HE 染色结果显示,模型组大鼠肺小动脉管壁增厚,管腔变窄;相较于模型组,低、高剂量组和通路激活剂组大鼠肺小动脉管壁变薄,管腔变宽。进一步分析发现,与假手术相比,模型组 WT 比例、WA 比率水平升高( $P < 0.05$ );相较于模型组,低、高剂量组和通路激活剂组 WT 比例、WA 比率水平

降低( $P < 0.05$ );相较于低剂量组,高剂量组 WT 比例、WA 比率水平降低( $P < 0.05$ );相较于高剂量组,通路激活剂组 WT 比例、WA 比率水平升高( $P < 0.05$ )。见图 3。

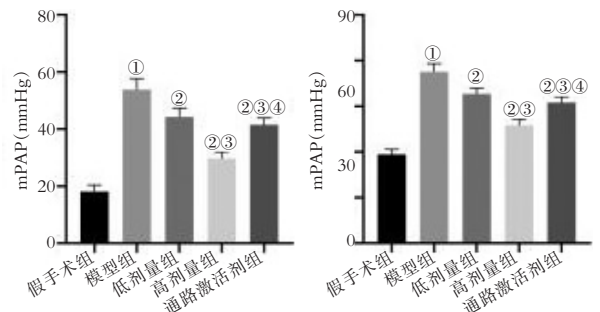


图 2 各组大鼠 mPAP 和 mRVP 水平比较( $n=15$ )

① $P < 0.05$ ,与假手术组相比;② $P < 0.05$ 与模型组相比;③ $P < 0.05$ 与低剂量组相比;④ $P < 0.05$ ,与高剂量组相比。

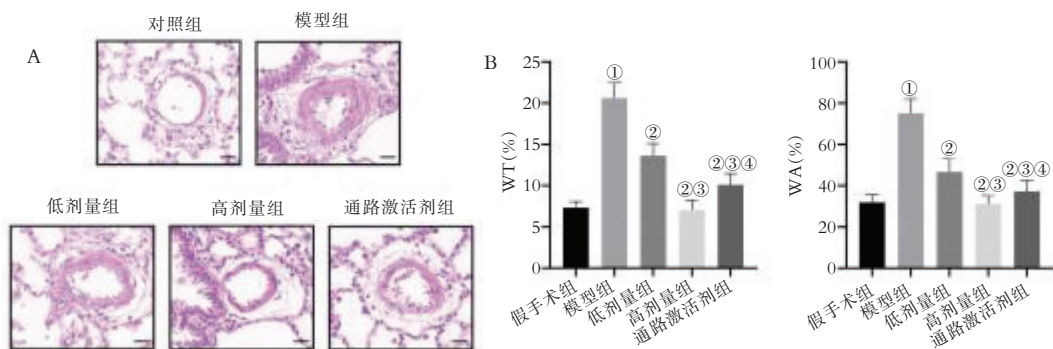


图3 各组大鼠肺小动脉组织病理变化及 WT 和 WA 比率比较

A. 各组大鼠肺小动脉 HE 染色结果( $\times 400$ ,比例尺 50  $\mu\text{m}$ );B. 各组大鼠 WT 和 WA 比率比较。① $P < 0.05$ ,与假手术组相比;② $P < 0.05$ ,与模型组相比;③ $P < 0.05$ ,与低剂量组相比;④ $P < 0.05$ ,与高剂量组相比。

#### 2.4 达格列净对 PH-LHF 大鼠肺血管重塑的影响

相较于假手术组,模型组大鼠的肺组织气管上皮脱落、大肺泡融合、细支气管狭窄、弹性纤维减少以及血管周围炎症;相较于模型组,低、高剂量组和通路激活剂组大鼠细支气管和血管周围炎症、弹性纤维数量以及大肺泡融合方面有所改善。进一步分析发现,相较于假手术组,模型组大鼠肺组织胶原纤维水平升高( $P < 0.05$ ),弹性纤维水平降低( $P <$

$0.05$ );相较于模型组,低、高剂量组和通路激活剂组大鼠肺组织胶原纤维水平降低( $P < 0.05$ ),弹性纤维水平升高( $P < 0.05$ );相较于低剂量组,高剂量组大鼠肺组织胶原纤维水平降低( $P < 0.05$ ),弹性纤维水平升高( $P < 0.05$ );相较于高剂量组,通路激活剂组大鼠肺组织胶原纤维水平升高( $P < 0.05$ ),弹性纤维水平降低( $P < 0.05$ )。见图 4。

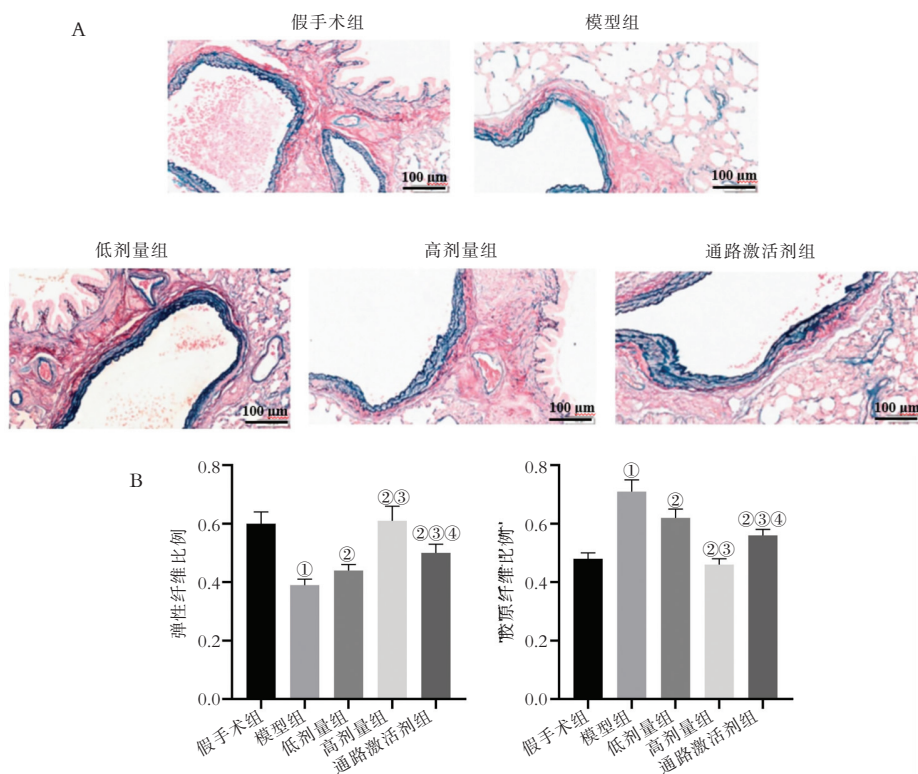


图4 各组大鼠肺血管重塑相关指标比较

A. 各组大鼠肺组织维多利亚蓝染色和范吉森染色结果( $\times 100$ );B. 各组大鼠肺组织的弹性纤维和胶原纤维比例比较。① $P < 0.05$ ,与假手术组相比;② $P < 0.05$ ,与模型组相比;③ $P < 0.05$ ,与低剂量组相比;④ $P < 0.05$ ,与高剂量组相比。

#### 2.5 达格列净对 PH-LHF 大鼠血清中肺纤维化相关指标的影响

相较于假手术组,模型组大鼠 LN、HA、TGF-

$\beta 1$  和 HYP 水平升高( $P < 0.05$ );相较于模型组,低、高剂量组和通路激活剂大鼠 LN、HA、TGF- $\beta 1$  和 HYP 水平降低( $P < 0.05$ );相较于低剂量组,高

剂量组大鼠 LN、HA、TGF- $\beta$ 1 和 HYP 水平降低 ( $P < 0.05$ ); 相较于高剂量组, 通路激活剂组大鼠 LN、HA、TGF- $\beta$ 1 和 HYP 水平升高 ( $P < 0.05$ )。见图 5。

### 2.6 达格列净对 TGF- $\beta$ /BMP 信号通路相关蛋白表达的影响

相较于假手术组, 模型组大鼠肺组织 TGF- $\beta$ 1、p-Smad1、p-Smad2、p-Smad3 蛋白表达水平升高 ( $P < 0.05$ ), BMPR2 蛋白表达水平降低 ( $P < 0.05$ ); 相较于模型组, 低、高剂量组和通路激活剂组

大鼠肺组织 TGF- $\beta$ 1、p-Smad1、p-Smad2、p-Smad3 蛋白表达水平降低 ( $P < 0.05$ ), BMPR2 蛋白表达水平升高 ( $P < 0.05$ ); 相较于低剂量组, 高剂量组大鼠肺组织 TGF- $\beta$ 1、p-Smad1、p-Smad2、p-Smad3 蛋白表达水平降低 ( $P < 0.05$ ), BMPR2 蛋白表达水平升高 ( $P < 0.05$ ); 相较于高剂量组, 通路激活剂组大鼠肺组织 TGF- $\beta$ 1、p-Smad1、p-Smad2、p-Smad3 蛋白表达水平升高 ( $P < 0.05$ ), BMPR2 蛋白表达水平降低 ( $P < 0.05$ )。见图 6。

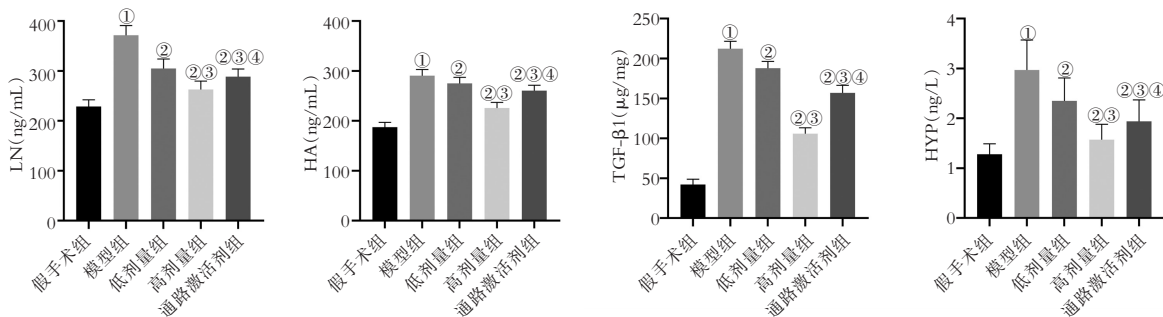


图 5 各组大鼠血清肺纤维化相关指标的比较 ( $n=15$ )

① $P < 0.05$ , 与假手术组相比; ② $P < 0.05$ , 与模型组相比; ③ $P < 0.05$ , 与低剂量组相比; ④ $P < 0.05$ , 与高剂量组相比。

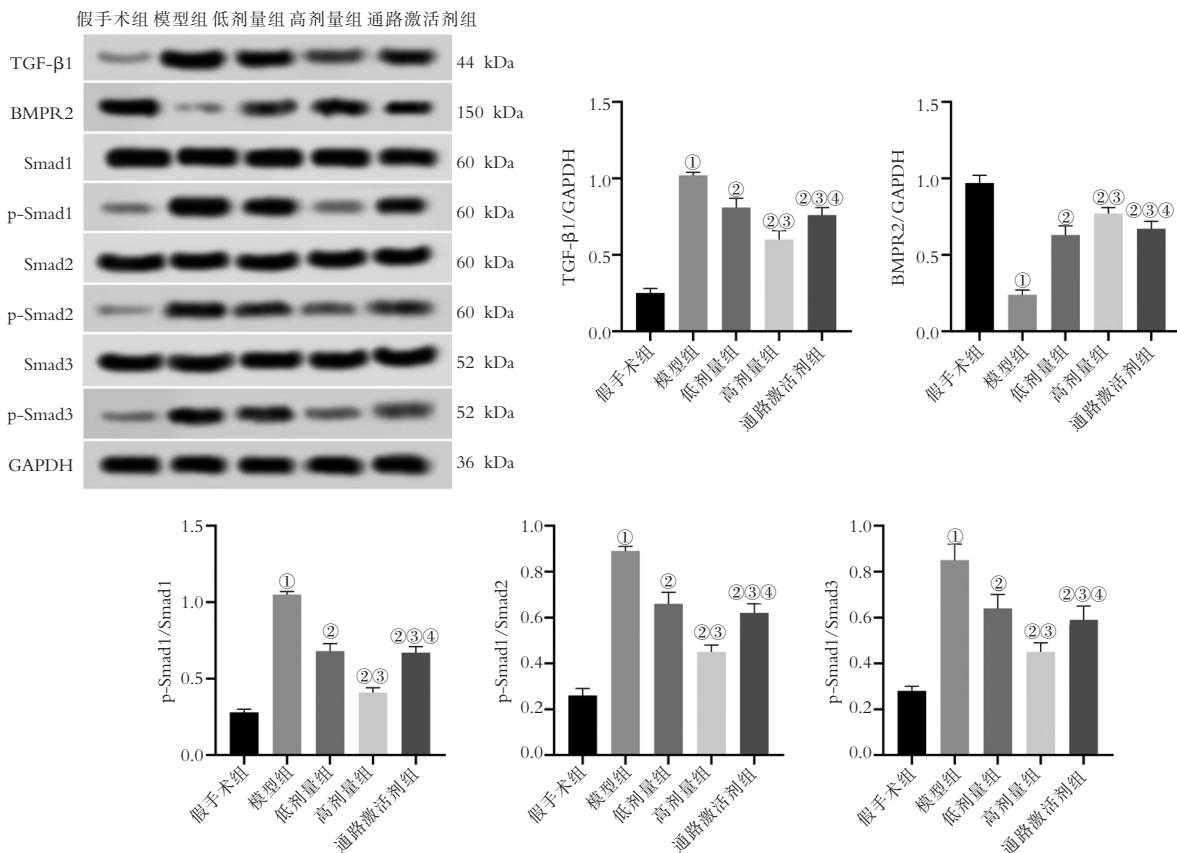


图 6 各组大鼠肺组织 TGF- $\beta$ /BMP 信号通路相关蛋白表达水平比较 ( $n=9$ )

① $P < 0.05$ , 与假手术组相比; ② $P < 0.05$ , 与模型组相比; ③ $P < 0.05$ , 与低剂量组相比; ④ $P < 0.05$ , 与高剂量组相比。

### 3 讨论

PH-LHF 是慢性心力衰竭常见且严重的并发

症, 约超三分之一以上的中重度心力衰竭患者合并 PH-LHF。其发病机制主要是左心功能障碍导致肺静脉压升高, 引起肺小动脉持续收缩、血管内皮功能

紊乱,最终导致肺血管重构和右心负荷升高<sup>[9]</sup>。本研究通过 TAC 构建 PH-LHF 大鼠模型,发现模型大鼠 RVSP 和 mPAP、mRVP 水平升高,LVEF 水平降低,与临床患者特征相符<sup>[10]</sup>。达格列净作为钠-葡萄糖协同转运蛋白 2 抑制剂,近年来在肺血管保护作用已在多项研究中被证实。在野百合碱诱导的肺动脉高压大鼠模型中,达格列净通过抑制 NF- $\kappa$ B 通路减少肺血管炎性浸润,减少中膜厚度<sup>[11]</sup>。在慢性低氧诱导肺动脉高压大鼠模型中,达格列净能够降低肺动脉壁厚度和右心室肥大<sup>[12]</sup>。另外有研究<sup>[13]</sup>揭示,达格列净能够降低肺动脉高压大鼠右心室收缩压和肺血管重塑。临床研究<sup>[14]</sup>表明,达格列净可降低心 HF 患者心血管死亡和因 HF 住院风险。本研究发现,达格列净干预降低 PH-LHF 大鼠 RVSP 和 mPAP、mRVP 水平,升高 LVEF 水平,降低 WT 比例、WA 比率和胶原纤维比例,升高弹性纤维比例,提示达格列净具有心功能保护作用和肺动脉重塑功能。

肺纤维化是 PH-LHF 的重要病理特征,其形成与肺血管重塑密切相关。细胞外基质(如 LN、HA 和 TGF- $\beta$ )在肺小动脉壁过度沉积,导致血管壁增厚、管腔狭窄<sup>[15]</sup>,进一步加重肺动脉高压和心功能异常。此外,炎症细胞分泌促纤维化因子,也可加重肺血管炎症和纤维化程度。达格列净在抗纤维化方面展现出良好的作用。研究<sup>[16]</sup>发现,抑制 TGF- $\beta$ 1 表达,能够刺激肺上皮成纤维细胞的抗纤维化作用。动物研究<sup>[17]</sup>试验证实,通过降低肺纤维化相关指标 LN、HA、TGF- $\beta$ 1 以及肺组织 HYP 含量,能够减轻博来霉素诱导的大鼠肺泡炎和肺纤维化程度。此外,临床研究<sup>[18]</sup>显示,PH-LHF 患者肺组织中 TGF- $\beta$ 1 表达水平与肺血管重构程度及肺动脉压力正相关,提示 TGF- $\beta$ 1 参与了 PH-LHF 患者的肺纤维化程度和肺血管重构过程。Dai 等<sup>[19]</sup>研究表明达格列净可降低胶原容积分数和肺小动脉中膜厚度,减轻右心疾病大鼠肺血管纤维化。与之相似,本研究发现,达格列净干预后大鼠血清中 LN、HA、TGF- $\beta$ 1 和 HYP 水平降低,提示达格列净可能通过减轻肺纤维化改善大鼠肺动脉重塑和心功能。

TGF- $\beta$ /BMP 信号通路失衡是 PH-LHF 的核心分子机制。在左心衰竭状态下,肺循环淤血和缺氧可诱导 TGF- $\beta$ 1 过度激活,同时 BMP2 表达下调,导致促纤维化信号(如 TGF- $\beta$ /Smad2/3)占据主导<sup>[20]</sup>。TGF- $\beta$ 1 通过激活 Smad4 核转位促进纤维化基因转录<sup>[21]</sup>。此外,BMP 信号缺陷削弱其抗增殖和抗纤维化作用。如在 BMP2 缺失小鼠中发现,BMP2 基因功能缺失会损害 IL-15 信号通路,

导致自然杀伤细胞数量减少和功能障碍,从而促进肺动脉高压的发生,进而引起肺动脉高压的血管重构,提示 BMP 失衡是重构发生的重要诱因<sup>[22]</sup>。Zou 等<sup>[23]</sup>通过体内体外实验证实,抑制 TGF- $\beta$ /Smad2/3 通路可阻止肺动脉内皮细胞的内皮-间充质转化,进而缓解肺血管重构。也有研究<sup>[24]</sup>显示,TGF- $\beta$ 1/p38MAPK 信号通路活化可上调 NF- $\kappa$ B 表达,促进糖尿病大鼠肺纤维化进程,而达格列净可延缓肺纤维化的发生和发展。然而,达格列净对 PH-LHF 大鼠的改善作用是否涉及 TGF- $\beta$ /BMP 信号通路尚无报道。本研究发现,达格列净可下调 TGF- $\beta$ 1、p-Smad1、p-Smad2 和 p-Smad3 蛋白,升高 BMP2 蛋白,提示达格列净对 TGF- $\beta$ /BMP 信号通路的双向调控作用,一方面,达格列净抑制 TGF- $\beta$ 1/Smad2/3 信号通路,减少促纤维化因子表达<sup>[25]</sup>。另一方面,上调 BMP2 表达,激活 BMP-2/Smad1/5/8 信号通路,增强抗纤维化作用<sup>[4]</sup>。本研究进一步使用 TGF- $\beta$  通路激活剂 SRI-011381 进行挽救实验,发现 SRI-011381 能够在一定程度上消除达格列净对 TGF- $\beta$ /BMP 信号通路的影响。因此,达格列净可能通过抑制 TGF- $\beta$ /BMP 信号通路,发挥抗纤维化作用,改善 PH-LHF 大鼠肺血管重构和心功能。

综上,达格列净能够改善 PH-LHF 大鼠肺血管重构和心功能,减轻肺纤维化程度,所涉及作用机制可能与抑制 TGF- $\beta$ /BMP 信号通路有关。

#### 参考文献

- [1] Shen H, Gao Y, Ge D, *et al.* BRCC3 regulation of ALK2 in vascular smooth muscle cells: implication in pulmonary hypertension[J]. *Circulation*, 2024, 150(2): 132-150.
- [2] Zhao G, Xue L, Weiner AI, *et al.* TGF- $\beta$ 2 signaling coordinates pulmonary vascular repair after viral injury in mice and human tissue[J]. *Science Translational Medicine*, 2024, 16(732): eadg6229.
- [3] Nawaytout H, Fineman JR, Moledina S, *et al.* Practice patterns of pulmonary hypertension secondary to left heart disease among pediatric pulmonary hypertension providers[J]. *Pulmonary Circulation*, 2021, 11(1): 2045894021991446.
- [4] Wang C, Xing Y, Zhang J, *et al.* MED1 regulates BMP/TGF- $\beta$  in endothelium: implication for pulmonary hypertension[J]. *Circulation Research*, 2022, 131(10): 828-841.
- [5] 崔文建, 吴荣, 刘野, 等. 达格列净对心力衰竭大鼠心功能和线粒体能量代谢的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2023, 39(9): 1247-1251.
- [6] Kimura A, Ishida Y, Furuta M, *et al.* Protective roles of interferon- $\gamma$  in cardiac hypertrophy induced by sustained pressure overload[J]. *Journal of the American Heart Association*, 2018, 7(6): e008145.
- [7] 吴金春, 刘韬, 崔博, 等. 达格列净对肺动脉高压致右心衰竭大鼠房性心律失常的影响及机制[J]. *中国药理学通报*, 2023, 39

- (1):29-35.
- [8] 钟志年, 靳康, 熊俊, 等. 针刀干预对 LDH 模型大鼠 TGF- $\beta$ /BMP 信号通路水平的影响[J]. 河北医药, 2024, 46(17): 2570-2576.
- [9] Joshi SR, Atabay EK, Liu J, *et al.* Sotatercept analog improves cardiopulmonary remodeling and pulmonary hypertension in experimental left heart failure[J]. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 2023, 10:1064290.
- [10] Reddy YNV, Carter RE, Sorimachi H, *et al.* Dapagliflozin and right ventricular-pulmonary vascular interaction in heart failure with preserved ejection fraction: a secondary analysis of a randomized clinical trial [J]. *JAMA Cardiology*, 2024, 9(9): 843-851.
- [11] Qin T, Kong B, Dai C, *et al.* Protective effects of Dapagliflozin on the vulnerability of ventricular arrhythmia in rats with pulmonary artery hypertension induced by monocrotaline [J]. *Bioengineered*, 2022, 13(2):2697-2709.
- [12] Xu Y, Liang W, Huo J, *et al.* Effect of dapagliflozin on pulmonary vascular remodeling in rats with chronic hypoxic pulmonary arterial hypertension[J]. *Journal of Receptors and Signal Transduction*, 2024, 44(5-6):174-180.
- [13] Tang Y, Tan S, Li M, *et al.* Dapagliflozin, Sildenafil and their combination in monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension[J]. *BMC Pulmonary Medicine*, 2022, 22(1):142.
- [14] Solomon SD, McMurray JJV, Claggett B, *et al.* Dapagliflozin in heart failure with mildly reduced or preserved ejection fraction [J]. *The New England Journal of Medicine*, 2022, 387(12): 1089-1098.
- [15] Wang J, Guan L, Yu J, *et al.* Halofuginone prevents inflammation and proliferation of high-altitude pulmonary hypertension by inhibiting the TGF- $\beta$ 1/Smad signaling pathway [J]. *Scientific Reports*, 2025, 15:3619.
- [16] Lei Q, Yu Z, Li H, *et al.* Fatty acid-binding protein 5 aggravates pulmonary artery fibrosis in pulmonary hypertension secondary to left heart disease via activating Wnt/ $\beta$ -catenin pathway[J]. *Journal of Advanced Research*, 2022, 40:197-206.
- [17] 高瑕, 冯同, 李万成. 异甘草酸镁对肺纤维化大鼠的保护作用及机制研究[J]. 解放军医药杂志, 2021, 33(3):1-5.
- [18] Oriaku I, LeSieur MN, Nichols WC, *et al.* A novel BMPR2 mutation with widely disparate heritable pulmonary arterial hypertension clinical phenotype [J]. *Pulmonary Circulation*, 2020, 10(3):2045894020931315.
- [19] Dai C, Kong B, Shuai W, *et al.* Dapagliflozin reduces pulmonary vascular damage and susceptibility to atrial fibrillation in right heart disease[J]. *ESC Heart Failure*, 2023, 10(1):578-593.
- [20] Calvier L, Herz J, Hansmann G. Interplay of low-density lipoprotein receptors, LRP5, and lipoproteins in pulmonary hypertension[J]. *JACC: Basic to Translational Science*, 2022, 7(2): 164-180.
- [21] Peng W, Zhou X, Xu T, *et al.* BMP-7 ameliorates partial epithelial-mesenchymal transition by restoring SnoN protein level via Smad1/5 pathway in diabetic kidney disease[J]. *Cell Death & Disease*, 2022, 13:254.
- [22] Hilton LR, Rätsep MT, VandenBroek MM, *et al.* Impaired interleukin-15 signaling via BMPR2 loss drives natural killer cell deficiency and pulmonary hypertension[J]. *Hypertension*, 2022, 79(11):2493-2504.
- [23] Zou X, Yuan M, Zhou W, *et al.* SOX17 prevents endothelial-mesenchymal transition of pulmonary arterial endothelial cells in pulmonary hypertension through mediating TGF- $\beta$ /Smad2/3 signaling [J]. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 2025, 72(4):364-379.
- [24] 周蕾, 房辉, 张守军, 等. 达格列净对糖尿病大鼠肺纤维化治疗作用机制及效果 [J]. 中国老年学杂志, 2022, 42(22): 5629-5633.
- [25] 陈黎明, 王洋洋, 张静漪. 基于 TGF- $\beta$ 1/Smad 信号通路探讨度拉糖肽联合达格列净治疗早期糖尿病肾病的研究 [J]. *现代实用医学*, 2024, 36(1):28-31.

(收稿日期:2025-09-11

修回日期:2025-10-20)