

莫诺昔减轻 CVB3 感染心肌细胞炎症损伤的作用及其机制研究^{*}

李卫东 沈玄洋 张美琪 谭文涛 蒋晓路 沈媛 文红福

(川北医学院附属医院急诊医学科, 四川 南充 637000)

【摘要】 目的 探讨莫诺昔(MR)对柯萨奇病毒 B3(CVB3)引起的心肌损伤的保护作用及其机制。方法 分离培养 SD 乳鼠心肌细胞,使用 CVB3 感染心肌细胞建立心肌炎症损伤模型。随机将心肌细胞分为 5 组:Control 组、CVB3 组、CVB3+MR(10、50 和 100 μ M)组。CCK-8 检测心肌细胞活力,Western blot 检测 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(NLRP3)、含 CARD 的相关斑点样蛋白(ASC)、活化的含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 1(Cleaved caspase-1)、Cleaved caspase-3、Cleaved caspase-9、B 细胞淋巴瘤因子(Bcl-2)和 Bcl-2 相关蛋白(Bax)的表达。ELISA 检测白介素 1 β (IL-1 β)、白介素 18(IL-18)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)和心肌肌钙蛋白 I(cTnI)表达水平。结果 MR 对各剂量组心肌细胞活力的影响无统计学差异($P>0.05$)。与 Control 组相比,CVB3 组心损标志物 CK-MB 和 cTnI 以及炎症因子 IL-1 β 和 IL-18 的表达增加($P<0.05$);与 CVB3 组相比,CVB3+MR 各剂量组上述指标均下降($P<0.05$)。与 Control 组相比,CVB3 组中 NLRP3、ASC、Cleaved caspase-1、Cleaved caspase-3、caspase-9 和 Bax 表达增加($P<0.05$),Bcl-2 表达降低($P<0.05$);与 CVB3 组相比,CVB3+MR 各剂量组 Bcl-2 表达有所增加,其他蛋白表达均下降($P<0.05$)。结论 MR 可以减轻 CVB3 感染心肌细胞炎症损伤,其机制与抑制心肌焦亡、凋亡和炎症反应有关。

【关键词】 莫诺昔;NLRP3 炎性小体;柯萨奇病毒 B3;凋亡;病毒性心肌炎

【中图分类号】 R542.2⁺1 **【文献标志码】** A **DOI:**10.3969/j.issn.1672-3511.2025.03.004

Studies on the role and mechanism of morroniside in attenuating inflammatory injury of CVB3-infected cardiomyocytes

LI Weidong, SHEN Xuanyang, ZHANG Meiqi, TAN Wentao, JIANG Xiaolu, SHEN Yuan, WEN Hongfu

(Department of Emergency, The Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan, China)

【Abstract】 **Objective** To investigate the protective effect of morroniside (MR) on myocardial injury induced by Coxsackievirus B3 (CVB3) and its mechanism. **Methods** Cardiomyocytes from SD mice were isolated and cultured, and myocardial inflammatory injury model was established by infecting cardiomyocytes with coxsackievirus B3 (CVB3). Cardiomyocytes were randomly divided into 5 groups: Control group, CVB3 group, and CVB3+MR (10, 50, and 100 μ M) group. CCK-8 was used to detect cardiomyocyte viability, and Western blot was used to detect the expression of NLRP3, ASC, Cleaved caspase-1, Cleaved caspase-3, Caspase-9, Bcl-2, and Bax proteins. ELISA was used to detect IL-1 β , IL-18, CK-MB IL-1 β , IL-18, CK-MB and cTnI were detected by ELISA. **Results** There was no difference in the effect of MRs on cardiomyocyte viability in each dose group ($P>0.05$). The expression of cardiac damage markers CK-MB and cTnI as well as inflammatory factors IL-1 β and IL-18 was increased in the CVB3 group compared with the Control group ($P<0.05$), and all of the above indicators were decreased in the CVB3+MR group compared with the CVB3 group ($P<0.05$). Compared with the Control group, the expression of NLRP3, ASC, Cleaved caspase-1, Cleaved caspase-3, caspase-9 and Bax was increased in the CVB3 group ($P<0.05$), and the expression of Bcl-2 was decreased in the CVB3+MR group ($P<0.05$), and compared with the CVB3 group, the expression of Bcl-2 was increased ($P<0.05$), and all other protein expressions decreased ($P<0.05$). **Conclusion** MR attenuates inflammatory injury in CVB3-infected car-

基金项目:四川省医学会医学科研课题立项(s22101)

引用本文:李卫东,沈玄洋,张美琪,等.莫诺昔减轻 CVB3 感染心肌细胞炎症损伤的作用及其机制研究[J].西部医学,2025,37(3):332-337.

DOI:10.3969/j.issn.1672-3511.2025.03.004

diomyocytes by mechanisms related to the inhibition of myocardial charring, apoptosis, and inflammatory responses.

【Key words】 Monensin; NLRP3 inflammasome; Coxsackievirus B3; Apoptosis; Viral myocarditis

病毒性心肌炎以局部和全身炎症反应为特征,是一种炎症性疾病,也是年轻人心源性猝死的主要原因^[1]。病毒性心肌炎的主要原因是柯萨奇病毒 B3 (Coxsackievirus B3, CVB3) 感染导致^[2]。更重要的是, CVB3 诱导的急性心肌炎可发展为扩张型心肌病^[3], 且缺乏有效的治疗药物^[4]。有研究表明, CVB3 感染可通过激活免疫系统反应来诱导心肌损伤^[5]。然而其确切机制仍不清楚, 因此探索 CVB3 诱导的心肌炎症损伤机制并发现潜在的治疗药物势在必行。尽管病毒性心肌炎的确切发病机制仍然不清, 但过度的炎症反应被认为可能是导致心脏损伤的主要机制^[6]。在炎症反应中, NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3) 与炎症加剧和心脏重塑密切相关^[7]。NLRP3 的激活导致含 CARD 的相关斑点样蛋白 (Apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC) 的募集, 随后导致含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 1 (Cysteiny aspartate specific proteinase, caspase-1) 的募集和激活, 活化的 caspase-1 可以激活白介素 1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β) 和白介素 18 (Interleukin-18, IL-18)^[8]。重要的是, IL-1 β 和 IL-18 是在炎症反应的恶化中发挥关键作用^[9]。然而 NLRP3 介导的炎症反应在 CVB3 感染的心肌炎症损伤中的作用及机制有待进一步探索。莫诺昔 (Moroniside, MR) 是从山茱萸中提取的一类广泛的环烯醚萜苷^[10]。MR 与 SHSY5Y 细胞共同孵育可以显著限制活性氧 (Reactive oxygen species, ROS) 的形成^[10], ROS 对 CVB3 导致的炎症反应至关重要^[11]。此外, MR 还被认为具有抑制促凋亡蛋白 caspase-3 和 caspase-9 的活性, 同时上调抗凋亡蛋白 B 细胞淋巴瘤因子 2 (Bcl-2) 的活性^[12]。众所周知, 炎症反应往往伴随着细胞凋亡^[13]。然而 MR 是否能够通过调节 NLRP3 和凋亡减轻 CVB3 导致的炎症反应仍然是未知的。因此, 本研究使用细胞模型探索 MR 在 CVB3 诱导的心肌炎症损伤中的治疗作用及其可能的机制。

1 材料与方法

1.1 病毒毒株与动物心肌细胞 CVB3 病毒 (Nancy 株) 购买于美国典型培养物保藏中心 (ATCC)。1~3 d 的 SPF 级 SD 大鼠由川北医学院实验动物中心提供 [许可证号: SYXK(川)2018-18]。本研究经川北医学院伦理委员会批准 (伦理审批号: 2023107)。

1.2 主要试剂及仪器 II 型胶原酶购自索莱宝公司; 胰蛋白酶、胎牛血清、基础培养基购于 Hyclone 公司; BCA 蛋白浓度测定试剂盒、RIPA 细胞裂解液、TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒购于碧云天生物科技公司; 逆转录试剂盒、SYBR 荧光定量 RT-PCR 试剂盒购自 TaKaRa 公司, IL- β 、IL-18、肌酸激酶同工酶 (Creatine kinase-MB, CK-MB)、心肌肌钙蛋白 I (Cardiac troponin subunit I polypeptide, cTnI) 等 ELISA 试剂盒、琼脂糖均购置于 BOSTER 公司。NLRP3、caspase-1、caspase-3、caspase-8、caspase-9、Bcl-2 和 Bcl-2 相关蛋白 (Bax) 多克隆抗体和 Goat Anti-Rabbit IgG (H+L) 购于 BOSTER 公司。MR 购自 SelleckInc 公司。CCK-8 检测试剂盒购于日本同仁化学株式会社。

1.3 细胞模型的建立及分组 根据既往的研究报道^[14] 建立 CVB3 感染心肌细胞模型。具体步骤概括如下: 将 1~3 d 乳鼠安乐处死后, 在无菌条件下迅速取出心脏, 运用胶原酶分离法分离心肌细胞, 运用差速贴壁法分离非心肌细胞, 分离后的心肌细胞培养在含 10% 胎牛血清的完全培养基中。采用 CVB3 病毒 100 TCID₅₀ 感染心肌细胞, 将感染后的心肌细胞培养在 37 °C 含有 5% CO₂ 的恒温培养箱中培养 2 h 后更换为普通培养液, 得到 CVB3 感染心肌细胞模型。随机将心肌细胞分为 5 组, 分别为 Control 组、CVB3 感染组、CVB3 + MR (10 μ mol/L) 组、CVB3 + MR (50 μ mol/L) 组、CVB3 + MR (100 μ mol/L) 组, 分别在培养箱中继续培养 24 h 后收集细胞和细胞培养上清液进行后续实验分析。

1.4 CCK-8 法测定心肌细胞活力 采用 CCK-8 法评价心肌细胞活力。实验根据试剂盒说明进行操作, 在设置 Control 组的同时, 将心肌细胞以 1×10^4 每孔接种于 96 孔培养板中培养 48 h, 每组做复孔 3 个。各实验组培养 24 h 后收集培养液, 随后每孔中加入 100 μ L CCK-8 工作液, 继续培养 2~4 h。用酶标仪测定在 450 nm 处的吸光度 (Optical density, OD)。按下列公式计算细胞的存活率: 细胞活力 = 处理组吸光度值 / Control 组吸光度值 \times 100%; 处理组吸光度 = 处理组 OD 值 - Control 组 OD 值。

1.5 ELISA 检测炎症和心肌损伤因子 采用 ELISA 法检测细胞培养上清液中 IL-1 β 、IL-18、CK-MB、cTnI 蛋白水平。实验根据试剂盒说明进行操作, 收集细胞上清, 在每个孔中加入 100 μ L 标准液或样品, 37 °C 下孵育 90 min。每孔加入 100 μ L 生物素标记抗体工作

液,37 °C 下孵育 60 min。每孔加入 100 μL SABC 工作液,37 °C 下孵育 30 min。加入 90 μL TMB 底物溶液,37 °C 孵育 15 min。加入 50 μL 终止液。在 450 nm 波长下读数并计算。

1.6 Western blot 检测蛋白表达 将各组细胞用 PBS 清洗。加入含有蛋白酶磷酸酶抑制剂的 RIPA 裂解液,裂解 30 min。随后将裂解液转入 EP 管中,4 °C 15 000 转离心 15 min 后取上清,采用 BCA 法测定蛋白浓度,随后蛋白浓度归一,100 °C 煮 5 min 使蛋白变性。SDS-PAGE 凝胶电泳,电泳结束后将蛋白转移至 PVDF 膜,5% 脱脂奶粉封闭,随后分别加入 NLRP3、ASC、IL-1β、caspase-1、caspase-3、caspase-9、Bcl-2、Bax 一抗稀释液(1:1 000)、GAPDH 内参稀释液(1:1 000),4 °C 孵育过夜,加入二抗(1:4 000)。随后用增强化学发光(ECL)显影。

1.7 RT-PCR 检测基因表达 根据 RNAiso plus 试剂盒说明,从心肌细胞中提取 RNA。使用 TOYOBO-kit 和 iQ5 Real-Time PCR Detection System,按照说明书进行 RT-PCR 分析 NLRP3 的转录水平。使用 GAPDH 为内参。用 Bio-RAD 软件评估熔解曲线和数值。采用比较循环阈值法对 mRNA 相对水平进行定量。

1.8 统计学分析 采用 SPSS 19.0 软件分析数据,图像分析采用 Image J。GraphPad Prism 9.0 绘制统计图表。所有测量数据均采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表

示。使用 *t* 检验或方差分析(ANOVA)分析符合正态分布的数据,并对不符合正态分布的测量数据组进行非参数秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MR 对正常心肌细胞活力的影响 在培养 48 h 后生长状态良好的心肌细胞中加入不同浓度的 MR (10、50、100 μM),作用 24 h 后经 CCK-8 检测发现,不同浓度的 MR 处理组与 Control 组相比细胞活力差异无统计意义($P > 0.05$),这表明 MR 在 100 μM 浓度以内对心肌细胞活力无明显影响。见图 1。

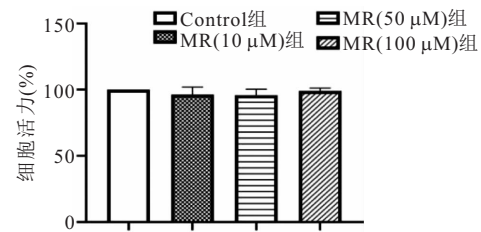


图 1 MR 对正常心肌细胞活力的影响

Figure 1 Effect of MR on normal cardiomyocyte viability

2.2 MR 对心肌细胞 CVB3 感染损伤标志物的影响

ELISA 检测上清液中心肌损伤标志物 CK-MB、cTnI,结果表明,与 Control 组相比, CVB3 组明显升高($P < 0.05$),与 CVB3 组比较,MR 治疗的各组 CK-MB、cTnI 的表达均有不同程度降低($P < 0.05$)。见图 2。

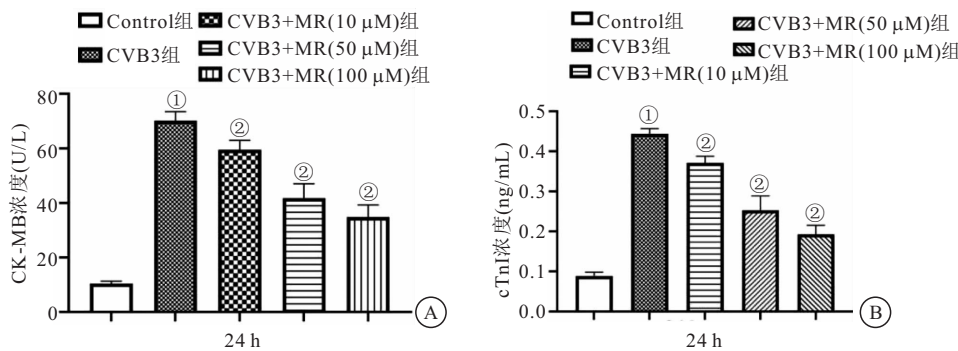


图 2 MR 对心肌细胞 CVB3 感染损伤标志物的影响

Figure 2 Effect of MR on markers of CVB3 infection damage in cardiomyocytes

注:A. 检测各实验组心肌细胞培养上清液中 CK-MB 含量;B. 检测各实验组心肌细胞培养上清液中 cTnI 含量。与 Control 组比较,① $P < 0.05$;与 CVB3 组比较,② $P < 0.05$ 。

2.3 MR 对 CVB3 感染心肌细胞后 NLRP3 基因及蛋白表达的影响 RT-qPCR 检测结果表明(图 3A),与 CVB3 组比较,MR 给药 24 h 后 NLRP3 mRNA 的表达量降低,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。随着 MR 剂量的增加,NLRP3 mRNA 的表达进一步降低,与 CVB3 组相比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

Western blot 检测结果表明(图 3B),MR 低剂量组 NLRP3 表达量明显低于 CVB3 组,随着剂量增加至高剂量组 NLRP3 的表达量进一步下降,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。这表明 MR 是以剂量依赖性抑制由 CVB3 感染引起的 NLRP3 基因和蛋白表达增高。

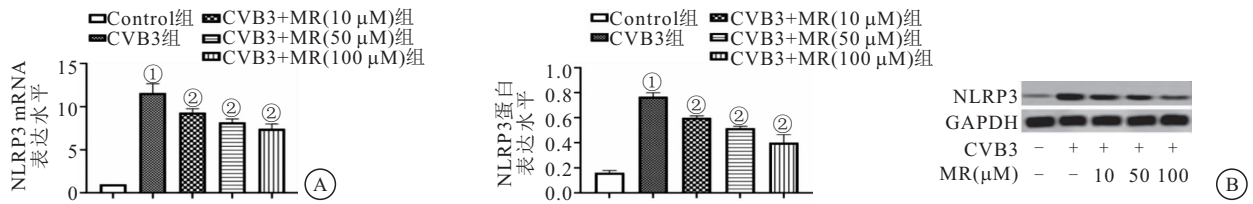


图 3 MR 对 CVB3 感染心肌细胞后 NLRP3 基因及蛋白表达的影响

Figure 3 Effect of MR on NLRP3 gene and protein expression after CVB3 infection of cardiomyocytes

注:A. MR 对 CVB3 感染心肌细胞中 NLRP3 mRNA 表达的影响;B. MR 对 CVB3 感染心肌细胞中 NLRP3 蛋白表达的影响。与 Control 组比较,① $P < 0.05$;与 CVB3 组比较,② $P < 0.05$ 。

2.4 MR 对 CVB3 感染心肌细胞 NLRP3 信号通路中 ASC、Cleaved caspase-1 蛋白表达的影响 采用 Western blot 检测 NLRP3 信号通路下游蛋白 ASC、Cleaved caspase-1 表达情况。不同浓度的 MR (10、50、100 μM) 均不同程度抑制由 CVB3 感染后心肌细

胞中 ASC 和 caspase-1 的活化。不同浓度的 MR 对 ASC、caspase-1 酶的活化均有抑制作用,MR 剂量越大,抑制作用越强,与 CVB3 组比较,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 4。

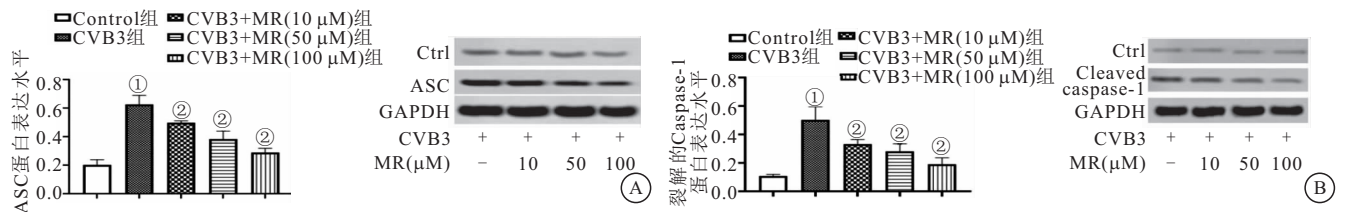


图 4 MR 对 CVB3 感染心肌细胞 NLRP3 信号通路中 ASC、Cleaved caspase-1 蛋白表达的影响

Figure 4 Effect of MR on the expression of ASC and Cleaved caspase-1 proteins in the NLRP3 signaling pathway in CVB3-infected cardiomyocytes

注:A. MR 对 CVB3 感染心肌细胞中 ASC 蛋白表达的影响;B. MR 对 CVB3 感染心肌细胞中 Cleaved caspase-1 表达的影响。与 Control 组比较,① $P < 0.05$;与 CVB3 组比较,② $P < 0.05$ 。

2.5 MR 对 CVB3 感染心肌细胞后 IL-1β、IL-18 表达的影响 ELISA 检测 IL-1β、IL-18 的实验结果显示,与 Control 组比较, CVB3 感染心肌细胞后会导致炎症因子 IL-1β、IL-18 的表达量明显增加。给予不同剂量的 MR 治疗后的检测结果表明,与 CVB3 组比较, MR 可以使 IL-1β、IL-18 的表达量明显降低,差异有

统计学意义 ($P < 0.05$)。随着剂量的增加,抑制作用增强,表现出一定的剂量依赖性。此外,Western blot 检测细胞 IL-1β 蛋白的表达情况。结果显示,与对照组比较,MR 呈浓度依赖性抑制细胞 IL-1β 蛋白的表达,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$),这与 ELISA 检测细胞外液的结果一致。见图 5。

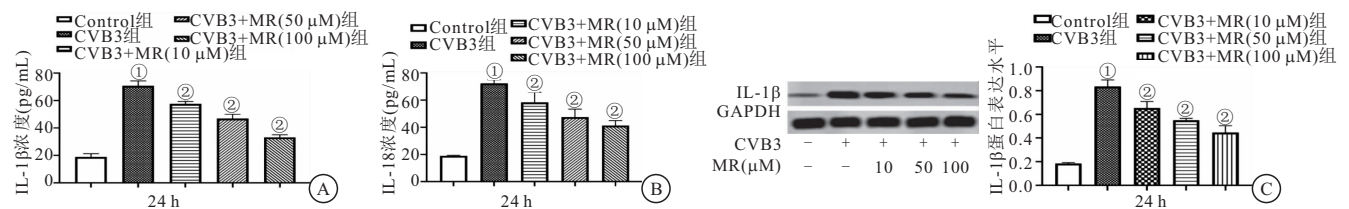


图 5 MR 对 CVB3 感染心肌细胞后 IL-1β、IL-18 表达的影响

Figure 5 Effect of MR on the expression of IL-1β and IL-18 after CVB3 infection of cardiomyocytes

注:A. ELISA 法检测各组心肌细胞培养液 IL-1β 含量;B. ELISA 法检测各实验组心肌细胞培养液 IL-18 含量;C. Western blot 检测各组 IL-1β 蛋白表达。与 Control 组比较,① $P < 0.05$;与 CVB3 组比较,② $P < 0.05$ 。

2.6 MR 对 CVB3 感染心肌细胞中 Cleaved caspase-3、Cleaved caspase-9 蛋白表达的影响 Western blot 实验结果显示,MR 不同剂量治疗组可明显抑制 CVB3 感染心肌细胞所致 Cleaved caspase-3 和 Cleaved caspase-9 蛋白表达升高,差异具有统计学意

义 ($P < 0.05$);在给予高剂量的 MR 作用于 CVB3 病毒感染的心肌细胞后,其抑制 Cleaved caspase-3 和 Cleaved caspase-9 蛋白表达的作用较中低剂量组更明显,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 6。

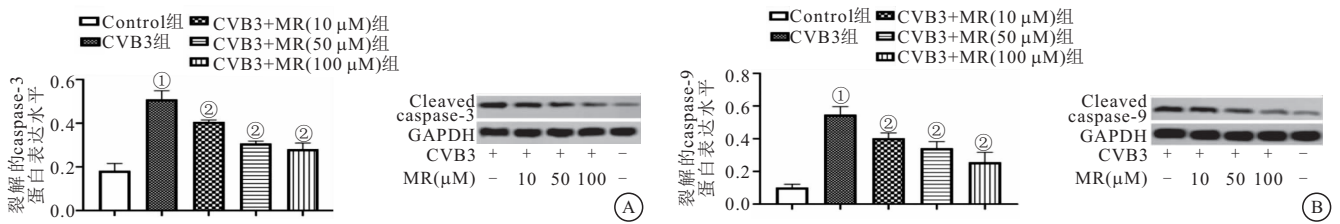


图 6 MR 对 CVB3 感染心肌细胞中 Cleaved caspase-3、Cleaved caspase-9 蛋白表达的影响

Figure 6 Effect of MR on Cleaved caspase-3, Cleaved caspase-9 protein expression in CVB3-infected cardiomyocytes

注: A. Western blot 检测心肌细胞中 Cleaved caspase-3 表达; B. Western blot 检测心肌细胞中 Cleaved caspase-9 表达。与 Control 组比较, ① $P < 0.05$; 与 CVB3 组比较, ② $P < 0.05$ 。

2.7 MR 对 CVB3 感染心肌细胞中 Bcl-2 及 Bax 蛋白表达的影响 Western blot 实验结果显示, MR 不同剂量治疗组可明显抑制 CVB3 感染心肌细胞所致 Bax 蛋白表达升高, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 并呈浓度依赖; 低剂量 MR (10 μM) 不能抑制 Bcl-2 蛋

白表达的降低, 与 CVB3 组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 50 μM 与 100 μM 浓度的 MR 具有抑制 Bcl-2 降低的作用, 与 CVB3 组和 CVB3+MR (10 μM) 组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 7。

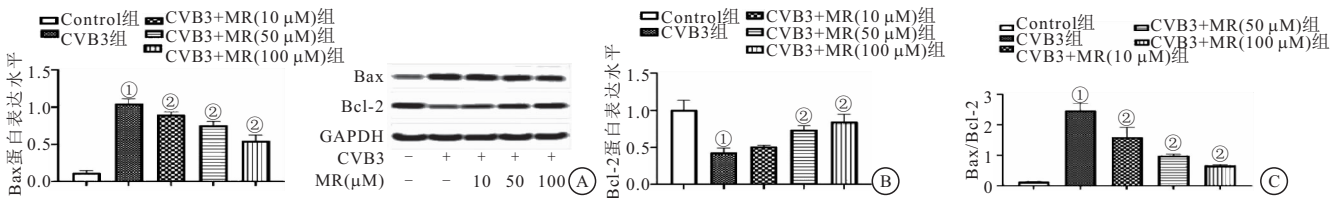


图 7 MR 对 CVB3 感染心肌细胞中 Bcl-2 及 Bax 蛋白表达的影响

Figure 7 Effect of MR on Bcl-2 and Bax protein expression in CVB3-infected cardiomyocytes

注: A. Western blot 分析心肌细胞中 Bax 蛋白表达情况; B. Western blot 分析心肌细胞中 Bcl-2 蛋白表达情况; C. 各组心肌细胞中 Bax/Bcl-2 的比值比较。与 Control 组比较, ① $P < 0.05$; 与 CVB3 组比较, ② $P < 0.05$ 。

3 讨论

病毒性心肌炎主要由病毒感染诱发, 是青年和儿童猝死的主要原因之一^[14]。病毒性心肌炎的致命性主要归因于很容易发展为扩张表型的非炎症性扩张型心肌病, 其预后往往较差^[15]。CVB3 感染导致的心肌损伤是病毒性心肌炎的主要特征^[11]。然而 CVB3 导致的心肌炎症损伤机制仍不清楚。

正常细胞受到过量病原体和损伤相关的分子刺激后, 会启动程序性细胞死亡机制, 最终导致细胞死亡^[16]。程序性细胞死亡的主要途径有焦亡、凋亡和坏死^[17]。NLRP3 介导的细胞焦亡在感染性疾病、神经系统疾病和心血管系统疾病的发生中有着重要的作用^[18-20]。近年来, 多项研究报道了焦亡在心血管疾病中的作用和机制^[7, 21]。当心肌细胞受到感染或能量代谢异常时会产生过 ROS, 导致心肌细胞会出现一系列不良反应^[22], 最终诱导心肌细胞的焦亡或凋亡^[23]。细胞焦亡的特点主要是炎症小体导致 Caspase-1 活化、细胞膜孔形成和细胞炎症因子的释放^[24]。凋亡的主要特点是凋亡蛋白 Bid 诱导 Bcl-2 拮抗剂 Bak 和 Bax 的激活, 随后激活 Caspase 级联反应, 从而诱发细胞凋亡^[25]。然而, 细胞焦亡和凋亡在 CVB3 感染导致

的心肌炎症损伤的机制研究报道较少。在本研究中, 通过对心肌细胞进行 CVB3 感染处理建立心肌炎症损伤的体外模型, 发现 CVB3 感染可以激活焦亡和凋亡通路, 并伴随炎症因子的释放。这表明焦亡和凋亡均参与了 CVB3 感染导致的心肌炎症损伤。这一发现开阔了 CVB3 感染导致的心肌炎症损伤机制的认识。

MR 已被证实在清除氧自由基、抑制凋亡和炎症反应中发挥了重要作用^[10, 26]。然而仍没有证据表明 MR 对 CVB3 感染导致的心肌炎症损伤具有保护作用。在本研究中, 发现单独使用 MR 对心肌细胞活力无明显影响, 这表明 MR 对正常生长的心肌细胞无明显毒性。CVB3 导致了心肌损伤标志物 CK-MB 和 cTnI 的增加, 而 MR 的治疗抑制了 CK-MB 和 cTnI 的增加, 这表明 MR 具有改善 CVB3 导致的心肌损伤的作用。进一步研究发现 CVB3 导致了心肌炎症因子 IL-1 β 和 IL-18 的增加, 在 MR 治疗后, 细胞外液 IL-1 β 和 IL-18 的水平均明显下降。IL-1 β 和 IL-18 的释放可能导致细胞程序性细胞死亡^[27], 随后本研究检测了 MR 对细胞凋亡的影响。结果表明 MR 的治疗降低了 CVB3 导致的心肌细胞凋亡蛋白 Cleaved

caspase-3, caspase-9 和 Bax 的增加,并增加了抗凋亡蛋白 Bcl-2。这些研究结果表明 MR 在治疗 CVB3 导致了心肌炎症和凋亡损伤方面有着巨大的潜力,拓展了 MR 的应用前景。

4 结论

MR 可以减轻 CVB3 感染心肌细胞炎症损伤,其机制与抑制心肌焦亡、凋亡和炎症反应有关。

【参考文献】

- [1] DOMINGUEZ F, KÜHL U, PIESKE B, *et al.* Update on myocarditis and inflammatory cardiomyopathy: reemergence of endomyocardial biopsy[J]. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*, 2016, 69(2): 178-187.
- [2] FAIRWEATHER D, ROSE N R. Coxsackievirus-induced myocarditis in mice: a model of autoimmune disease for studying immunotoxicity[J]. *Methods*, 2007, 41(1): 118-122.
- [3] ZHANG H, YUE Y, SUN T L, *et al.* Transmissible endoplasmic reticulum stress from myocardiocytes to macrophages is pivotal for the pathogenesis of CVB3-induced viral myocarditis[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 42162.
- [4] TRACHTENBERG B H, HARE J M. Inflammatory cardiomyopathic syndromes[J]. *Circ Res*, 2017, 121(7): 803-818.
- [5] TSCHÖPE C, AMMIRATI E, BOZKURT B, *et al.* Myocarditis and inflammatory cardiomyopathy: current evidence and future directions[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2021, 18(3): 169-193.
- [6] CHEN R K, ZHANG H R, TANG B T, *et al.* Macrophages in cardiovascular diseases: molecular mechanisms and therapeutic targets[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9(1): 130.
- [7] YUE R C, ZHENG Z Y, LUO Y, *et al.* NLRP3-mediated pyroptosis aggravates pressure overload-induced cardiac hypertrophy, fibrosis, and dysfunction in mice: cardioprotective role of irisin[J]. *Cell Death Discov*, 2021, 7(1): 50.
- [8] SHI J J, ZHAO Y, WANG K, *et al.* Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death[J]. *Nature*, 2015, 526(7575): 660-665.
- [9] LEE S, KARKI R, WANG Y Q, *et al.* AIM2 forms a complex with pyrin and ZBP1 to drive PANoptosis and host defence[J]. *Nature*, 2021, 597(7876): 415-419.
- [10] BHUIA M S, CHOWDHURY R, ARA I, *et al.* Bioactivities of morroniside: a comprehensive review of pharmacological properties and molecular mechanisms[J]. *Fitoterapia*, 2024, 175: 105896.
- [11] WANG H B, GAO P, JING L L, *et al.* The heart-protective mechanism of nitronyl nitroxide radicals on murine viral myocarditis induced by CVB3[J]. *Biochimie*, 2012, 94(9): 1951-1959.
- [12] WANG W, XU J D, LI L, *et al.* Neuroprotective effect of morroniside on focal cerebral ischemia in rats[J]. *Brain Res Bull*, 2010, 83(5): 196-201.
- [13] AI Y W, MENG Y T, YAN B, *et al.* The biochemical pathways of apoptotic, necroptotic, pyroptotic, and ferroptotic cell death[J]. *Mol Cell*, 2024, 84(1): 170-179.
- [14] 谢志玉,陈明. 心达康片联合常规治疗对小儿病毒性心肌炎的疗效观察[J]. *中国药师*, 2016, 19(8): 1518-1519, 1531.
- [15] MAHRHOLDT H, WAGNER A, DELUIGI C C, *et al.* Presentation, patterns of myocardial damage, and clinical course of viral myocarditis[J]. *Circulation*, 2006, 114(15): 1581-1590.
- [16] FINK S L, COOKSON B T. Apoptosis, pyroptosis, and necrosis: mechanistic description of dead and dying eukaryotic cells[J]. *Infect Immun*, 2005, 73(4): 1907-1916.
- [17] LAROCK C N, COOKSON B T. Burning down the house: cellular actions during pyroptosis[J]. *PLoS Pathog*, 2013, 9(12): e1003793.
- [18] ZENG Z L, LI G H, WU S Y, *et al.* Role of pyroptosis in cardiovascular disease[J]. *Cell Prolif*, 2019, 52(2): e12563.
- [19] ZHENG X T, CHEN W W, GONG F C, *et al.* The role and mechanism of pyroptosis and potential therapeutic targets in sepsis: a review[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 711939.
- [20] HU Y C, WANG B W, LI S, *et al.* Pyroptosis, and its role in central nervous system disease[J]. *J Mol Biol*, 2022, 434(4): 167379.
- [21] LU N, CHENG W J, LIU D L, *et al.* NLRP3-mediated inflammation in atherosclerosis and associated therapeutics[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 823387.
- [22] LI J, HE W, LIAO B, *et al.* FFA-ROS-P53-mediated mitochondrial apoptosis contributes to reduction of osteoblastogenesis and bone mass in type 2 diabetes mellitus[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 12724.
- [23] RAISH M. Momordica charantia polysaccharides ameliorate oxidative stress, hyperlipidemia, inflammation, and apoptosis during myocardial infarction by inhibiting the NF- κ B signaling pathway[J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 97: 544-551.
- [24] MARTINON F, BURNS K, TSCHOPP J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta[J]. *Mol Cell*, 2002, 10(2): 417-426.
- [25] ZOU H, LI Y, LIU X, *et al.* An APAF-1, cytochrome c multimeric complex is a functional apoptosome that activates procaspase-9[J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(17): 11549-11556.
- [26] 李毛,杨东东,徐江雁. 莫诺苷药理作用研究进展[J]. *中华中医药学刊*, 2023, 41(10): 70-75.
- [27] BERTHELOOT D, LATZ E, FRANKLIN B S. Necroptosis, pyroptosis and apoptosis: an intricate game of cell death[J]. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18(5): 1106-1121.

(收稿日期: 2024-01-02; 修回日期: 2024-10-17; 编辑: 刘灵敏)