DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20250905.003
网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/46.1089.r.20250905.1636.006

基于转录组学及GPⅥ信号通路探究新疆鼠尾草总萜抗血小板聚集及血栓形成的作用机制

王 蕾,王启文,阿孜古丽·阿里木,李雨欣,王晓梅,胡君萍,丛媛媛,王新玲 ✉
(新疆医科大学药学院,新疆 乌鲁木齐 830017)

[摘要] **目的**:基于转录组学及GPⅥ信号通路探究新疆鼠尾草总萜提取物(total terpenes extraction of *Salvia deserta* Schang, SDS-TTE)对血小板聚集和大鼠颈总动脉血栓形成的作用机制。**方法**:将雄性SD大鼠(体重180~220 g)随机分为6组,假手术组、模型组、阿司匹林组(10 mg/kg)和SDS-TTE低、中、高剂量组(40、80、160 mg/kg)。灌胃20 d后,除假手术组外,其他各组以$FeCl_3$诱导大鼠颈总动脉构建血栓模型。对假手术组、模型组及SDS-TTE高剂量组大鼠全血进行转录组学分析,筛选差异基因并验证;ELISA法检测血栓前分子标志物(t-PAIC、PIC、TM、TAT)、炎症因子(IL-6、IL-1β、TNF-α)的表达水平;扫描电镜观察各组血小板形态;酶标仪比浊法检测ADP、胶原和凝血酶诱导下血小板聚集情况;RT-qPCR和Western blot法分别检测大鼠骨髓巨核细胞中GPⅥ信号通路相关基因mRNA表达水平和P2Y12、GPⅥ及Integrin β3的蛋白表达。**结果**:综合GO、KEGG、PPI筛选得到模型组与SDS-TTE高剂量组的5个关键差异基因,*ASB9*、*CD151*、*DSP*、*GP*Ⅵ及*PPBP*,并经RT-qPCR验证与转录组测序分析结果一致;SDS-TTE中、高剂量可明显降低大鼠血浆/血清中PIC、t-PAIC、TM、TAT、IL-6、IL-1β和TNF-α水平($P<0.05$),血小板表面形态较为规则,伪足伸出明显减少,聚集率明显下降($P<0.05$),大鼠巨核细胞中P2Y12、GPⅥ和Integrin β3的mRNA和蛋白表达水平明显下降($P<0.05$);3种诱导剂诱导正常大鼠血小板后,与模型组的血清干预组比较,SDS-TTE高剂量组的血清干预组血小板的聚集明显降低($P<0.01$)。**结论**:SDS-TTE可能通过抑制GPⅥ信号通路激活和炎症反应、改善凝血-纤溶系统功能而发挥抗血小板聚集和血栓形成作用。

[关键词] 新疆鼠尾草;血小板聚集;转录组学;炎症反应;GPⅥ信号通路
[中图分类号] R285.5 [文献标志码] A [文章编号] 2097-5953(2026)21-1601-12

Study on the mechanism of total terpenoids from *Salvia deserta* Schang against platelet aggregation and thrombosis based on transcriptomics and GPⅥ signaling pathway

WANG Lei, WANG Qiwen, AZIGULI Alimu, LI Yuxin, WANG Xiaomei, HU Junping, CONG Yuanyuan, WANG Xinling ✉
(*School of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi* 830017, *China*)

[*Foundation Project*]: *This study was supported by the National Natural Science Foundation of China* (82060771); *Xinjiang Key Laboratory of Natural Medicines Active Components and Drug Release Technology*(*XJDX*1713)
[*Author*]: *WANG Lei, E-mail: wl*17865557155@163.*com.*
[*Correspondence to*]: *WANG Xinling, Ph.D., Professor, Master Supervisor, E-mail*: 365021216@*qq.com.*
Received: 2025-05-20 *Revised*: 2025-07-16 *JHMU*, 2026;32(21):1601-1612

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[Abstract] **Objective**: To explore the mechanism of total terpenes extraction of *Salvia deserta* schang (SDS-TTE) on platelet aggregation and common carotid artery thrombosis in rats based on transcriptomics and GPⅥ signaling pathway. **Methods**: The male SD rats (weighing 180-220 g) were randomly divided into 6 groups: sham operation group, model group, aspirin group (10 mg/kg) and SDS-TTE low, medium and high dose groups (40, 80 and 160 mg/kg). After 20 days of intragastric administration,

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82060771);新疆天然药物活性组分与释药技术重点实验室开放课题资助项目(XJDX1713)
[作者简介] 王蕾,E-mail:wl17865557155@163.com。
[通讯作者] 王新玲,博士,教授,硕士生导师,E-mail:365021216@qq.com。
[收稿日期] 2025-05-20 [修回日期] 2025-07-16 网络出版时间:2025-09-08 12:05:30

except the sham operation group, the rats in other groups were established with $FeCl_3$ induced common carotid artery thrombosis model. The whole blood of rats in sham operation group, model group and SDS-TTE high-dose group were analyzed by transcriptome analysis, and the differential genes were screened and verified; The expression levels of prothrombotic molecular markers (t-PAIC, PIC, TM, TAT) and inflammatory factors (IL-6, IL-1β, TNF-α) were detected by ELISA; The morphology of platelets was observed by scanning electron microscope; Platelet aggregation induced by ADP, collagen and thrombin was detected by microplate turbidimetry; RT-qPCR and Western blot were used to detect the mRNA expression of genes related to GPⅥ signaling pathway and the protein expression of P2Y12, GPⅥ and Integrin β3 in rat bone marrow megakaryocytes. **Results**: Five key differential genes, namely *ASB9*, *CD151*, *DSP*, *GP*Ⅵ and *PPBP*, between the model group and the SDS-TTE high-dose group were obtained by comprehensive screening of GO, KEGG and PPI, which were verified by RT-qPCR to be consistent to the results of transcriptome sequencing analysis; The results showed that the levels of PIC, t-PAIC, TM, TAT, IL-6, IL-1β and TNF-α in plasma/serum of rats in medium and SDS-TTE high-dose groups were significantly decreased ($P<0.05$), the platelet surface morphology was more regular, the protrusion of pseudopodia was significantly reduced, the aggregation rate was significantly decreased ($P<0.05$), and the mRNA and protein expression levels of P2Y12, GPⅥ and Integrin β3 in rat megakaryocytes were significantly decreased ($P<0.05$); Compared to the serum intervention group of model group, In the serum intervention subgroup of the high-dose SDS-TTE group, platelet aggregation was significantly reduced ($P<0.01$). **Conclusion**: SDS-TTE may play an anti platelet aggregation and thrombosis by inhibiting the activation of GPⅥ signaling pathway, inflammatory reaction and improving the function of coagulation fibrinolysis system.

[**Key words**] *Salvia deserta* Schang; Platelet aggregation; Transcriptomics; Inflammatory reaction; GPⅥ signaling pathway

随着人口老龄化程度持续加深，心血管疾病（cardiovascular diseases，CVDs）的发病率也在不断增加，成为全球公共卫生领域面临的重大挑战之一[1]。在CVDs的众多诱因中，血小板过度活化和聚集引发的血栓性疾病尤为关键。血小板源于巨核细胞成熟破裂，通过活化和聚集反应在止血、维持血管完整性方面发挥重要作用，并广泛参与血栓形成、动脉粥样硬化和免疫反应等病理过程[2]。当内皮细胞受损或血小板被激活时，会释放ADP和胶原等介质，进一步促进更多血小板活化，加速血栓形成[3]。尽管针对血栓性疾病的药物研发不断推进，治疗手段日益丰富，但现有药物仍存在着半衰期短、临床有效率不高等局限。因此，深入探究血栓性疾病的发病机制，以期开发出安全性高、疗效明显且副作用小的新型治疗药物，已成为当前研究的重要方向。

多年生草本植物新疆鼠尾草（*Salvia deserta* Schang）主要分布在新疆北部和中亚地区，民间以全草入药，用于清热解毒、止咳祛痰、消肿利尿[4]。已有研究表明其丹参素、原儿茶醛、迷迭香酸等水溶性酚酸类成分具有抗氧化、清除自由基等作用，可有效抑制肾脏组织细胞PKC的活性[5]；而熊果酸、齐墩果酸、6，7-去氢罗列酮等脂溶性成分则能抑制血小板的黏附与聚集，发挥抗炎、抗血栓作用[6-9]。课题组前期经对脂溶性部位进行提取纯化工艺优选，获得了新疆鼠尾草总萜提取物（total terpenes extraction of *Salvia deserta* Schang，SDS-TTE，总萜含量21.53%），药效学研究表明该提取物具有较好的抗血小板聚集和抗血栓作用[6,10]。进一步采用超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱法（UPLC-QE-Orbitrap-MS/MS）分析SDS-TTE的含药血清，鉴定出没食子酸、香草酸等11种入血成分，具有抑制血小板聚集的作用[11-13]。

血小板聚集机制错综复杂，与多条信号通路相关。研究表明，位于PI3K/AKT信号通路上游的GPⅥ信号通路，在整合素激活、血小板聚集调控和血栓形成的发生、发展中发挥着重要作用[14]。然而，SDS-TTE抑制血小板聚集和血栓形成的作用是否与干预GPⅥ信号通路相关，目前尚未见报道。本研究旨在通过建立$FeCl_3$诱导大鼠颈总动脉血栓模型，综合运用全血转录组学分析筛选关键基因，结合实验验证，探讨SDS-TTE对血小板聚集和血栓形成的影响及其潜在作用机制，并通过获取血栓模型大鼠骨髓巨核细胞进行深入分析，以期阐明SDS-TTE抗血小板聚集和血栓形成的具体作用机制。该研究旨在为SDS-TTE临床应用于血栓性疾病的治疗奠定实验基础，同时为深入挖掘新疆鼠尾草的药用价值积累科学证据，并为相关创新药物设计提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF级健康雄性SD大鼠，体重180～220 g，共129只。购买和饲养于新疆医科大学动物中心，实验动物生产资质[许可证号：SCXK（新）2023-0001]和实验动物使用资质[许可证号：SYXK（新）2023-0004]。温度稳定在（25±1）℃、相对湿度控制在

(50±10)%的环境中,自由进食。所有动物实验在新疆医科大学动物实验中心进行,并且已通过该中心动物伦理委员会的审查与批准,伦理审批编号:IACUC-20200331-55。

1.2 药物

阿司匹林肠溶片(德国拜耳医药保健有限公司,货号BJ61611;规格为100 mg/片);新疆鼠尾草(批号:20190928),采自新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市郊区艾维尔沟托里乡,经新疆医科大学胡君萍教授鉴定为唇形科鼠尾草属新疆鼠尾草(*Salvia deserta* Schang)。

1.3 主要试剂与仪器

主要试剂:大鼠PIC、t-PAIC检测试剂盒(上海酶联,货号:11-44-143、11-44-144);大鼠TAT、TM检测试剂盒(上海江莱生物,货号:JL10201、JL11548);大鼠TNF-α、IL-1β、IL-6检测试剂盒(武汉贝茵莱,货号:RA20035、RA20020、RA20607);电镜固定液(武汉赛维尔,货号:CR2206151);ADP、胶原、凝血酶(北京索莱宝,货号:24231120001、8230821003、34240202003);血小板生成素(TPO,PeproTech,货号:400-34-10UG);反转录试剂盒(北京宝日医生物,货号:638315);荧光定量PCR试剂盒(成都福际生物,货号:QP-01014);Integrin β3、P2Y12抗体(江苏亲科生物,货号:AF6086、DF10263);GPⅥ抗体(北京博奥森,货号:bs-9897R)。

主要仪器:电子天平(AB135-S,瑞士Mettler Toledo公司);离心机、全波长酶标仪(Heraeus Fresco17、Multiskan GO,美国Thermo Fisher Scientific公司);离子溅射仪、扫描电子显微镜(MC1000、SU8100,日本HITACHI公司);垂直电泳-转膜装置(552BR,美国BioRad公司);化学发光成像系统(Azure600,北京深蓝云生物科技有限公司)。

1.4 SDS-TTE的制备

参考文献[10]进行制备:称取新疆鼠尾草药材2.0 kg,粉碎,以物料比1∶20加入95%乙醇,85 ℃加热回流提取2.5 h,过滤,收集滤液,重复提取3次,合并滤液,50 ℃减压旋转蒸发,回收溶剂得乙醇提取浸膏;向醇提浸膏中加蒸馏水成混悬液,再加入等体积水饱和乙酸乙酯溶液进行萃取,重复萃取5次,合并乙酸乙酯萃取液,40 ℃减压旋转蒸发,浓缩干燥后即得SDS-TTE(37.6 g,得率为1.88%),加入0.5% CMC-Na溶液搅拌制成混悬液备用。

1.5 实验分组与血栓模型的构建

SPF级屏障环境中适应性饲养1周后,将117只SD大鼠随机分为6组,即假手术组、模型组、阿司匹林组(10 mg/kg)和SDS-TTE低、中、高剂量组(40、80、160 mg/kg),按1 mL/100 g进行灌胃,1次/d,连续20 d。假手术组和模型组灌胃0.5% CMC-Na溶液,其余各组灌胃阿司匹林或不同浓度SDS-TTE混悬液。参照文献[6],建立$FeCl_3$诱导的大鼠血栓模型,第19天给药结束后,禁食不禁水12 h,第20天给药1 h后进行麻醉,分离左侧颈总动脉并在下方放置塑料薄膜,假手术组上方放置吸有生理盐水的滤纸,其余各组放置吸有2.16 mol/L $FeCl_3$的滤纸,20 min后取掉滤纸,结扎动脉两侧并切除血栓。

1.6 含药血清的制备

取模型组和SDS-TTE高剂量组非抗凝全血,3 000 r/min离心20 min制备含药血清,56 ℃下灭活30 min,0.22 μm滤膜过滤除菌,分装后置于-80 ℃保存备用,避免反复冻融[15]。

1.7 转录组RNA-seq制备和测序

取假手术组(N组)、模型组(M组)和SDS-TTE高剂量组(H组)大鼠抗凝全血(n=3),TRIzol法提取总RNA,检测其浓度、纯度及总RNA的完整性;用PCR扩增技术构建cDNA文库并对文库进行质量检测。文库质检合格后,在Illumina平台进行测序,获取3组大鼠全血总RNA的全部序列信息。

1.7.1 差异基因表达水平分析及功能分析 采用DESeq软件,以|log2FoldChange|>0.7和P<0.05为条件筛选差异基因。采用topGO软件按照MF、BP和CC 3个分类对差异基因进行GO富集分析和KEGG富集分析。将差异基因导入STRING数据库,按互作分数>0.150的条件构建PPI网络图,借助Cytoscape 3.10.2软件中的CytoNCA工具进行拓扑分析,筛选得到SDS-TTE在改善血小板聚集及血栓形成方面可能起到关键作用的基因。

1.7.2 RT-qPCR检测差异基因mRNA的表达 向全血中分别加入TRIzol裂解液提取总RNA,并将其反转录成cDNA进行RT-qPCR检测,选取*GAPDH*作为内参基因。按照说明书中ABI 7500实时荧光定量PCR仪的扩增体系及流程进行实验。引物序列见表1。

1.8 ELISA法检测大鼠血栓前分子标志物及炎症因子水平

1.8.1 大鼠血浆血栓前分子标志物水平检测 取EDTA-K2抗凝全血,于4 ℃、3 000 r/min离心15 min,取适量上清液(血浆),采用ELISA试剂盒测定t-PAIC、PIC、TM和TAT等血栓前分子标志物水平,严格按照试剂盒说明书操作。

表1 引物名称及序列

Tab 1 Primer names and sequences

基因名称	类型	引物序列
GAPDH	上游引物	ACGGCAAGTTCAACGGCACAG
（Rat）	下游引物	CGACATACTCAGCACCAGCATCAC
ASB9	上游引物	TGTGGATCTGGTGCCTCTGGAG
（Rat）	下游引物	TCTTGTGATGCTGCCGAATGCC
CD151	上游引物	CCACTTTCAAGGAGCGACGGAAC
（Rat）	下游引物	GCCAGGATGCCAGCAATGATCTC
DSP	上游引物	GCAGCAGAGGGCGGAAATGG
（Rat）	下游引物	CTTGTCCAGTTGCCAGCGGTAG
PPBP	上游引物	GCTGAGCCTGCTTCTCGTTGC
（Rat）	下游引物	CCTGGCCGGAACACATTCACAC
*GP*Ⅵ	上游引物	ACCGAGTGACCCTCTAGTAGTTGTG
（Rat）	下游引物	TGGAGGCTTCTGTCATAGGAGATGG
P2Y12	上游引物	CCAACGCCACCTCAGCCAAC
（Rat）	下游引物	CAGGACAGTGTAGAGCAATGGGAAG
Integrin β3	上游引物	TCAATGCCACCTGCCTCAACAAC
（Rat）	下游引物	CTGAAGCTCACCGTGTCTCCAATC

1.8.2 大鼠血清炎症因子水平检测 使用无抗凝剂的采血管取血，于3 000 r/min离心20 min，取适量上清液（血清），采用ELISA试剂盒测定IL-6、IL-1β、TNF-α水平，严格按照试剂盒说明书操作。

1.9 血小板形态学观察

使用枸橼酸钠抗凝剂采血（抗凝剂∶血＝1∶9），800 r/min离心10 min，吸取上层血浆，再次离心，获得血小板沉淀；PBS缓冲液清洗后加适量电镜固定液，室温避光固定30 min，4 ℃保存。取50 μL悬浮液滴在经过防脱处理的载玻片上，室温晾干后将样本进行喷金导电处理，使用SU8100型扫描电子显微镜于3.0 kV电压下进行观察并采集图像。

1.10 血小板聚集实验

1.10.1 体内血小板聚集率的检测 使用枸橼酸钠抗凝剂采血，低速离心获得富血小板血浆（PRP），剩余部分以高速离心获取贫血小板血浆（PPP），用PPP调整PRP数目；每孔加入调整后的血浆，655 nm波长下检测OD值，检测结束后，分别加入诱导剂ADP（终浓度为15 μmol/L）、胶原（终浓度为8 μg/mL）和凝血酶（终浓度为2 U/mol），震荡孵育10 min后，再次检测各组OD值；另设置空白对照组，只加生理盐水。计算血小板聚集率%＝（1－加入诱导剂前的OD值/加入诱导剂后的OD值）×100%。

1.10.2 体外血小板聚集率的检测 另取正常SD雄性大鼠12只，随机分为模型组的血清干预组和SDS-TTE高剂量组的血清干预组，每组6只，同“1.10.1”方法制备PRP与PPP。将调整后的血浆加入到96孔板中，再分别加入生理盐水（空白对照）、“1.6”方法下制备的含药血清，37 ℃恒温孵育10 min，655 nm波长下检测其OD值。检测结束后，空白对照中继续加生理盐水，模型组血清组和SDS-TTE高剂量组血清组中则分别加入终浓度同“1.10.1”下的ADP、胶原和凝血酶，震荡孵育10 min后再次测量各组OD值。血小板聚集率计算方法同“1.10.1”。

1.11 大鼠巨核细胞*P2Y12*、*GP*Ⅵ及*Integrin β3*的mRNA及蛋白表达水平的检测

1.11.1 大鼠巨核细胞的获取与培养 按照课题组前期优化方法[16]，取假手术组、模型组、阿司匹林组及SDS-TTE低、高剂量组大鼠，无菌条件下分别剥取股骨和胫骨，超净工作台内冲洗骨髓腔收集骨髓细胞，经细胞滤网过滤，制备骨髓单细胞悬液。红细胞裂解液裂解后，使用含TPO的IMDM完全培养基重悬，置培养箱中培养6 d，用不同浓度BSA溶液，按照密度梯度法富集巨核细胞（每个样本由2只大鼠骨髓合并而成）。

1.11.2 RT-qPCR检测巨核细胞中*P2Y12*、*GP*Ⅵ及*Integrin β3*的mRNA表达 同“1.7.2”下实验方法提取巨核细胞中总RNA并进行*P2Y12*、*GP*Ⅵ及*Integrin β3*的mRNA表达水平检测，引物序列见表1。

1.11.3 Western blot检测巨核细胞中P2Y12、GPⅥ和Integrin β3的蛋白表达水平 提取大鼠巨核细胞中的蛋白，使用BCA法对蛋白浓度进行测定并计算，采用归一化法测定各样本蛋白浓度，金属浴加热处理，分装冻存备用。实验时依次进行制胶、上样、电泳、电转、封闭等流程，将制备好的膜材加入P2Y12、GPⅥ和Integrin β3一抗进行孵育，于4 ℃过夜，经TBST缓冲液洗涤后，加入二抗室温孵育1 h。使用ImageJ软件分析系统对目标条带的灰度进行定量分析。

1.12 统计学处理

本研究所有实验数据处理采用SPSS 27.0以及GraphPad Prism 9.5软件，计量资料以$\bar{x}\pm s$表示。多组间比较采用单因素方差分析，两两比较采用LSD检验分析，$P<0.05$为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 SDS-TTE干预$FeCl_3$血栓大鼠全血的转录组测序

2.1.1 转录组序列的表征 实验最终测序的原始Reads总数为399 600 640，每个样本平均含有44 400 071个测序片段，其Q20在98.37%以上，Q30在95.07%以上。对测序数据进行进一步过滤

后,3组平均干净读数分别为39 199 175、46 579 197、46 340 525;高质量序列碱基数分别为5 902 747 144、7 013 233 048、6 975 976 643。筛选后,模型组与SDS-TTE高剂量组2组差异基因表达存在16个上调基因,23个下调基因。结果见表2、图1。

表2 读取总结和映射结果

Tab 2 Summary of the reads and mapping results

Sample	Raw Reads	Q20(%)	Q30(%)	Clean Reads	Clean Data (bp)	Total Mapped(%)	Multiple Mapped(%)	Uniquely Mapped(%)
N1	41 600 930	98.50	95.44	41 278 348	6 215 148 716	98.73	35.77	64.23
N2	38 700 410	98.48	95.40	38 386 140	5 780 779 160	98.74	38.95	61.05
N3	38 259 614	98.42	95.20	37 933 038	5 712 313 557	98.59	36.16	63.84
M1	50 031 378	98.37	95.07	49 603 462	7 468 500 096	98.70	36.61	63.39
M2	47 240 616	98.37	95.07	46 833 700	7 052 682 714	98.57	36.23	63.77
M3	43 656 208	98.49	95.41	43 300 428	6 518 516 333	98.47	40.30	59.70
H1	52 638 206	98.55	95.59	52 241 614	7 867 682 744	98.38	41.54	58.46
H2	44 227 722	98.45	95.30	43 882 622	6 605 321 090	98.63	33.96	66.04
H3	43 245 556	98.53	95.52	42 897 338	6 454 926 095	98.63	37.68	62.32

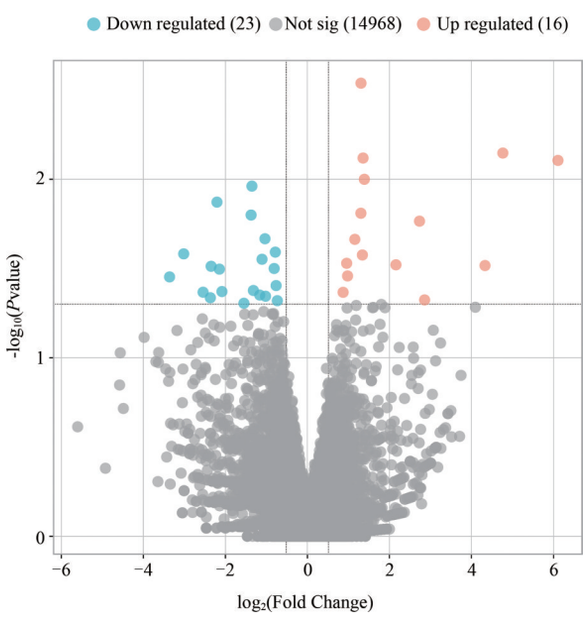


图1 模型组与SDS-TTE高剂量组差异基因火山图

Fig 1 Volcano plot of differential genes between model group and SDS-TTE high dose group

2.1.2 差异表达基因的GO富集分析 选取前10个GO term条目进行展示,结果显示,差异基因可能通过上皮细胞黏附(epithelial cell-cell adhesion)、巨核细胞分化的调控(regulation of megakaryocyte differentiation)、质膜信号受体复合物(plasma membrane signaling receptor complex)、整合素复合体(integrin complex)及参与细胞黏附的蛋白质复合物(protein complex involved in cell adhesion)等相关过程来影响血小板的活化、聚集反应。见图2。

2.1.3 差异表达基因的KEGG富集分析 选取前20个信号通路进行展示,结果显示,差异基因主要参与致心律失常性右心室心肌病(arrhythrnmogenic right ventricular cardiomyopathy)、肥厚性心肌病(hypertrophic cardiomyopathy)、扩张型心肌病(dilated cardiomyopathy)、心肌收缩(cardiac muscle contraction)和VEGF等信号通路,这些过程与抗凝系统、炎症反应、血管内皮功能以及免疫系统等存在密切关系。见图3。

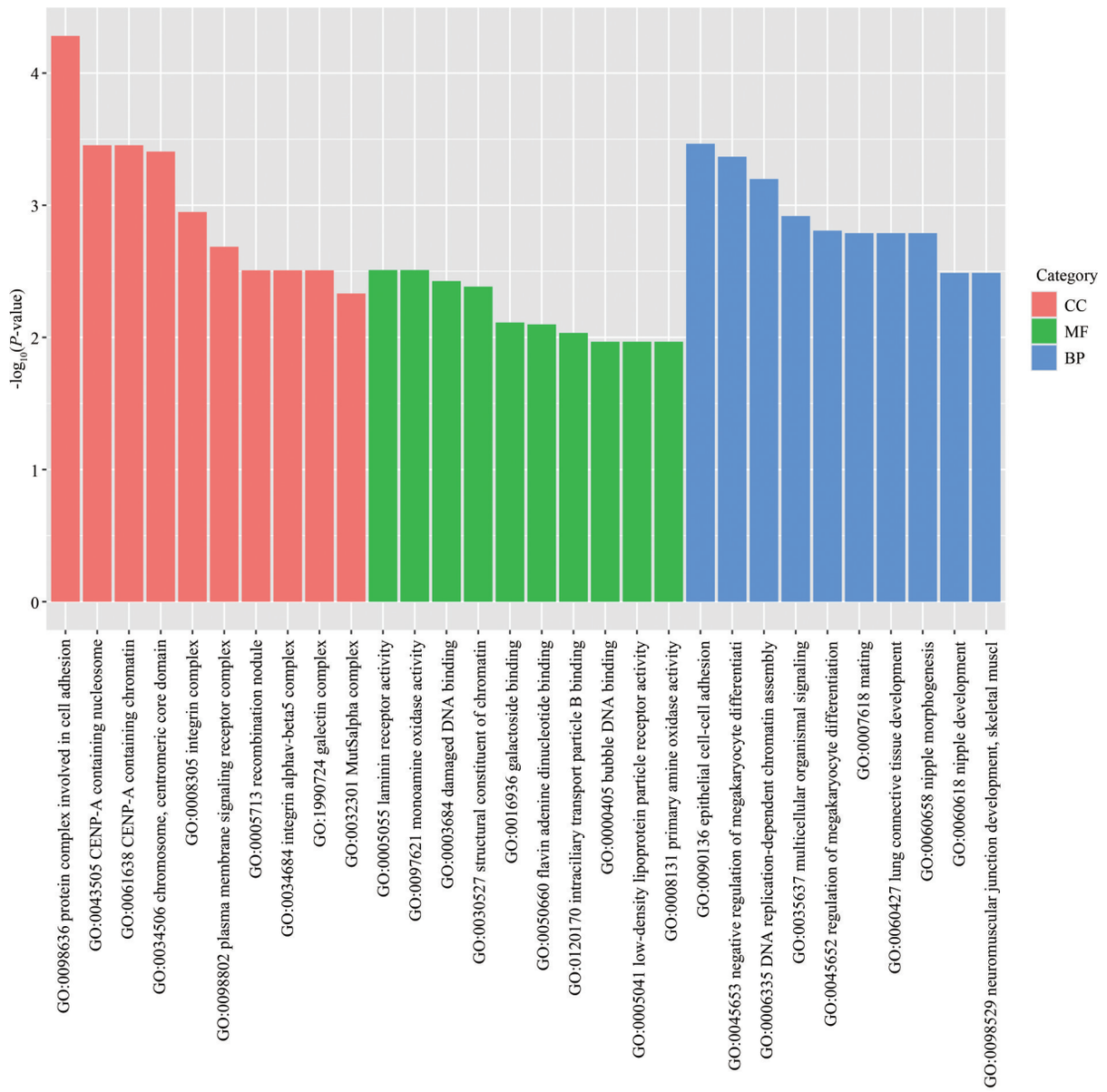
2.1.4 SDS-TTE对大鼠全血中关键基因表达水平的影响 基于转录组学筛选分析,本研究推测SDS-TTE抑制血小板聚集及血栓形成可能与调控*GP*Ⅵ、*ASB9*、*CD151*、*DSP*及*PPBP*等基因有关。RT-qPCR实验验证结果显示,与模型组比较,SDS-TTE高剂量组*GP*Ⅵ、*ASB9*、*CD151*及*PPBP* mRNA表达明显下调,*DSP* mRNA表达明显上调($P<0.05$),该结果与转录组测序结果一致,具有统计学意义,见图4。

2.2 SDS-TTE对大鼠血浆中t-PAIC、PIC、TM、TAT水平的影响

与假手术组比较,模型组血浆中PIC、t-PAIC、TM和TAT水平出现不同程度的明显升高($P<0.05$),表明$FeCl_3$血栓模型构建成功;与模型组比较,SDS-TTE中、高剂量组血浆中t-PAIC、PIC、TM、TAT的表达水平明显降低,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见图5。

2.3 SDS-TTE对大鼠血清中IL-6、IL-1β和TNF-α水平的影响

与假手术组比较,模型组大鼠血清中IL-6、IL-1β和TNF-α水平出现明显的升高($P<0.01$);与模型组比较,各给药组大鼠经SDS-TTE干预后,其血清中



BP：生物过程；CC：细胞组成；MF：分子功能

图2　模型组与SDS-TTE高剂量组差异基因的GO富集分析

Fig 2　GO enrichment analysis of differential genes between model group and SDS-TTE high dose group

IL-6、IL-1β和TNF-α水平明显降低（$P<0.01$），炎症情况有所改善，且3种炎症因子表达水平随SDS-TTE浓度升高呈剂量依赖性下降趋势。见图6。

2.4　SDS-TTE对大鼠血小板形态的影响

扫描电镜结果显示，假手术组大鼠血小板呈梭形，表面形态较为规则，仅有少量伪足伸出；模型组表面形态极不规则，有大量伪足伸出；与模型组比较，不同剂量SDS-TTE干预后的大鼠血小板形态有所改善，其表面轮廓较为规则，伪足伸出明显减少。见图7。

2.5　SDS-TTE及其含药血清对ADP、胶原、凝血酶诱导的大鼠血小板聚集率的影响

体内血小板聚集结果显示，与假手术组比较，模型组大鼠血小板在ADP、胶原和凝血酶的诱导下聚集率明显升高，差异具有统计学意义（$P<0.01$）；与模型组比较，SDS-TTE中、高剂量组大鼠血小板聚集率明显下降，组间存在统计学差异（$P<0.05$）。体外血小板聚集结果显示，与模型组的血清干预组比较，SDS-TTE高剂量组的血清干预组的聚集率明显降低（$P<0.01$）。见图8。

2.6　SDS-TTE对大鼠巨核细胞*P2Y12*、*GP*Ⅵ及

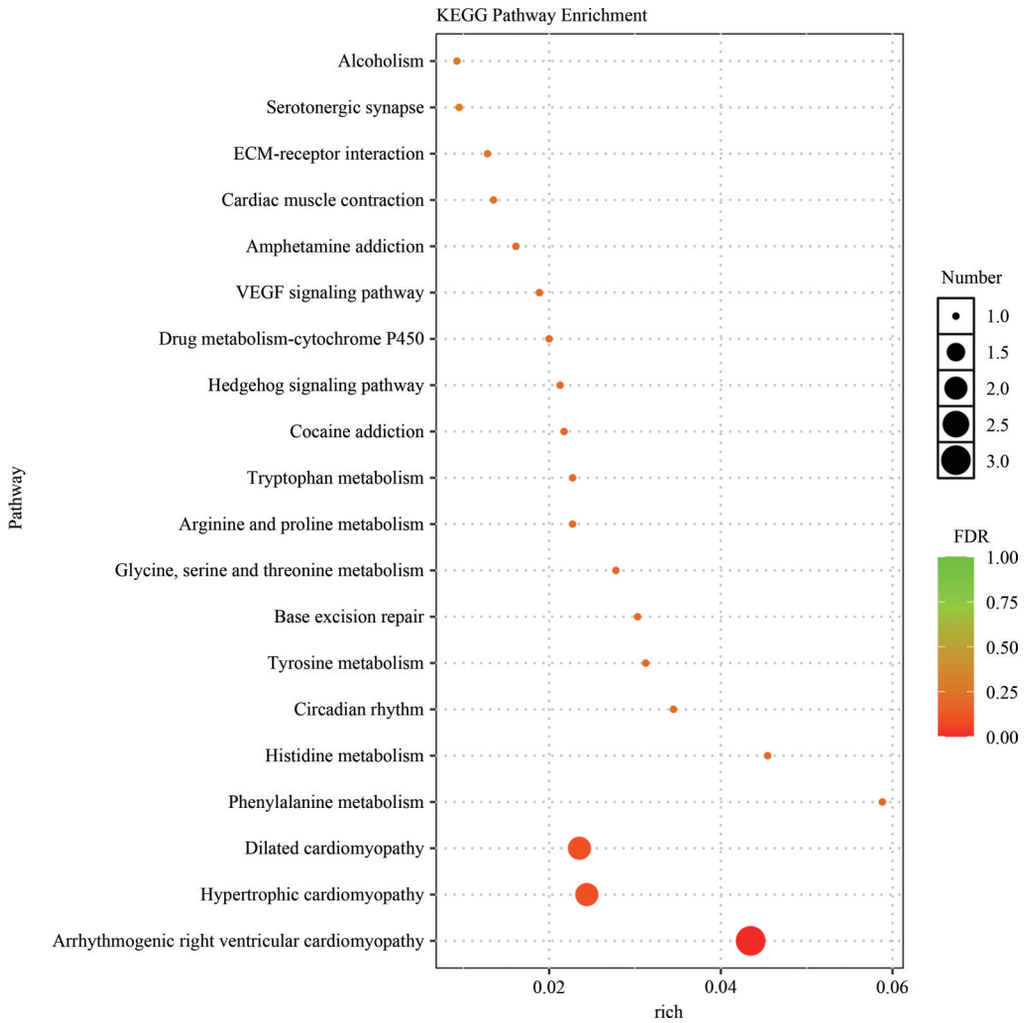
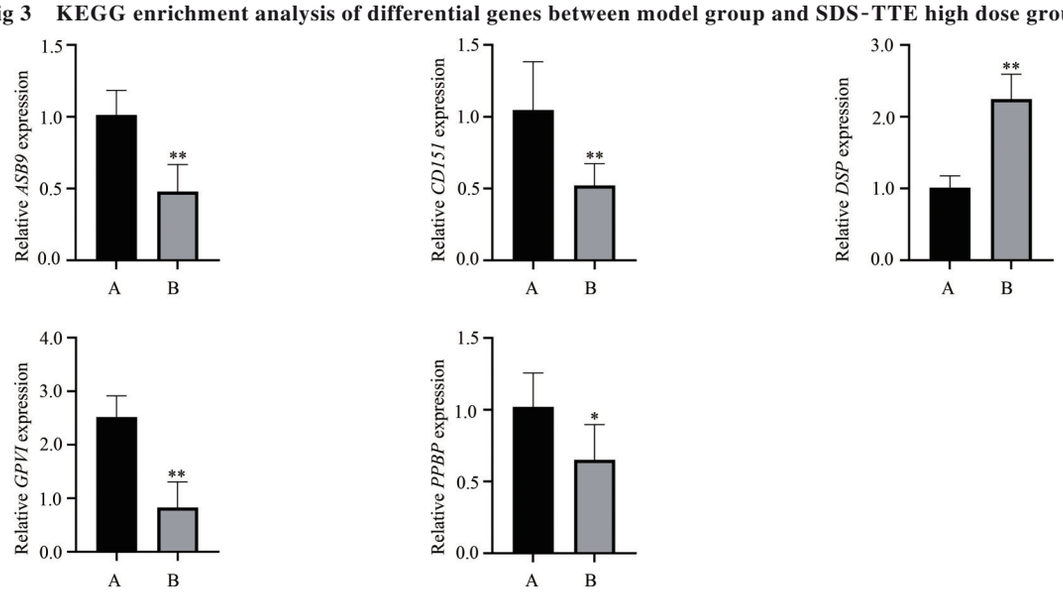


图3　模型组与SDS-TTE高剂量组差异基因的KEGG富集分析

Fig 3　KEGG enrichment analysis of differential genes between model group and SDS-TTE high dose group



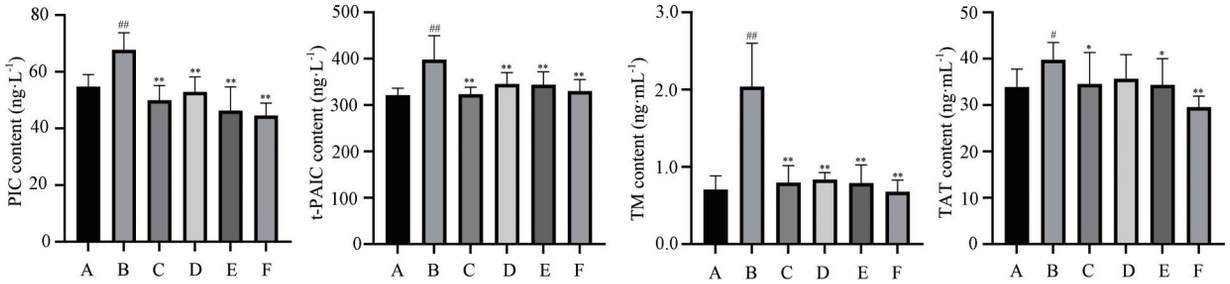
与模型组比较，$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$；A：模型组；B：SDS-TTE高剂量组

图4　SDS-TTE对大鼠全血中关键mRNA表达的影响($n=6$，$\bar{x}\pm s$)

Fig 4　The effect of SDS-TTE on key mRNA expression in rat whole blood($n=6$，$\bar{x}\pm s$)

Integrin β3 mRNA表达水平的影响

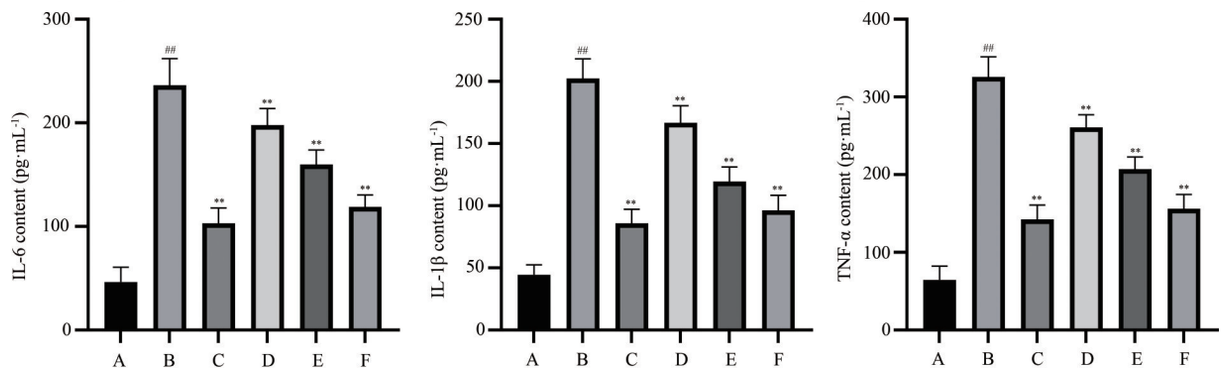
与假手术组比较，模型组大鼠巨核细胞中*P2Y12*、*GP*Ⅵ和*Integrin β3*的mRNA表达量明显升高($P<0.01$)；与模型组比较，SDS-TTE低、高剂量



与假手术组比较，$^{\#}P<0.05$，$^{\#\#}P<0.01$；与模型组比较，$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$；A：假手术组；B：模型组；C：阿司匹林组；D：SDS-TTE低剂量组；E：SDS-TTE中剂量组；F：SDS-TTE高剂量组

图5 SDS-TTE对大鼠血浆中PIC、t-PAIC、TM、TAT水平的影响（$n=8$，$\bar{x}\pm s$）

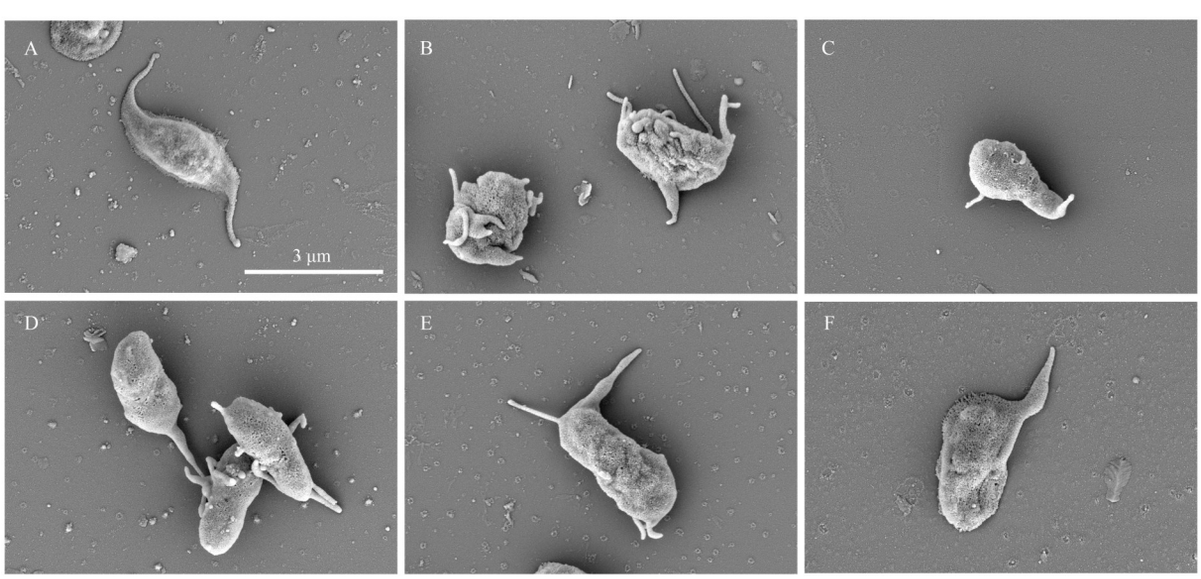
Fig 5 Effects of SDS-TTE on the levels of PIC, t-PAIC, TM and TAT in plasma of rats（$n=8$，$\bar{x}\pm s$）



与假手术组比较，$^{\#\#}P<0.01$；与模型组比较，$^{**}P<0.01$；A：假手术组；B：模型组；C：阿司匹林组；D：SDS-TTE低剂量组；E：SDS-TTE中剂量组；F：SDS-TTE高剂量组

图6 SDS-TTE对大鼠血清中IL-6、IL-1β、TNF-α水平的影响（$n=6$，$\bar{x}\pm s$）

Fig 6 Effect of SDS-TTE on the levels of IL-6, IL-1β and TNF-α in serum of rats（$n=6$，$\bar{x}\pm s$）



A：假手术组；B：模型组；C：阿司匹林组；D：SDS-TTE低剂量组；E：SDS-TTE中剂量组；F：SDS-TTE高剂量组

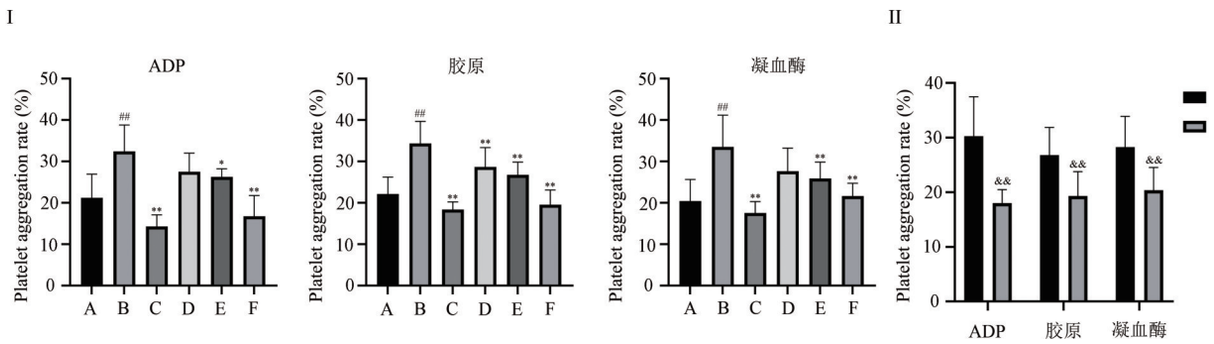
图7 SDS-TTE对大鼠血小板形态的影响（15 000×）

Fig 7 Effect of SDS-TTE on platelet morphology in rats（15 000×）

组大鼠巨核细胞中*P2Y12*、*GP Ⅵ*及*Integrin β3* mRNA表达量明显降低（$P<0.05$）。见图9。

2.7 SDS-TTE对大鼠巨核细胞P2Y12、GP Ⅵ及Integrin β3蛋白表达水平的影响

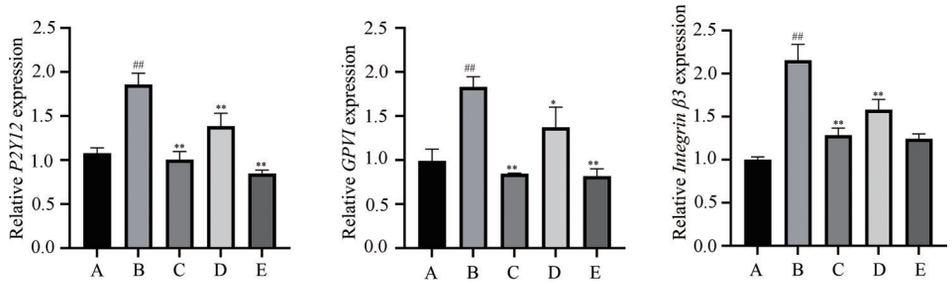
与假手术组比较，模型组大鼠巨核细胞中P2Y12、GP Ⅵ及Integrin β3的蛋白表达水平明显上调（$P<0.05$）；与模型组比较，SDS-TTE干预后的



与假手术组比较，$^{\#\#}P<0.01$；与模型组比较，$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$；与模型组血清干预组比较，$^{\&\&}P<0.01$；Ⅰ：体内血小板聚集率的表达情况；Ⅱ：体外血小板聚集率的表达情况；A：假手术组；B：模型组；C：阿司匹林组；D：SDS-TTE低剂量组；E：SDS-TTE中剂量组；F：SDS-TTE高剂量组；G：模型组的血清干预组；H：SDS-TTE高剂量组的血清干预组

图8　SDS-TTE对大鼠血小板聚集率的影响($n=6,\bar{x}\pm s$)

Fig 8　Effect of SDS-TTE on platelet aggregation rate in rats($n=6,\bar{x}\pm s$)

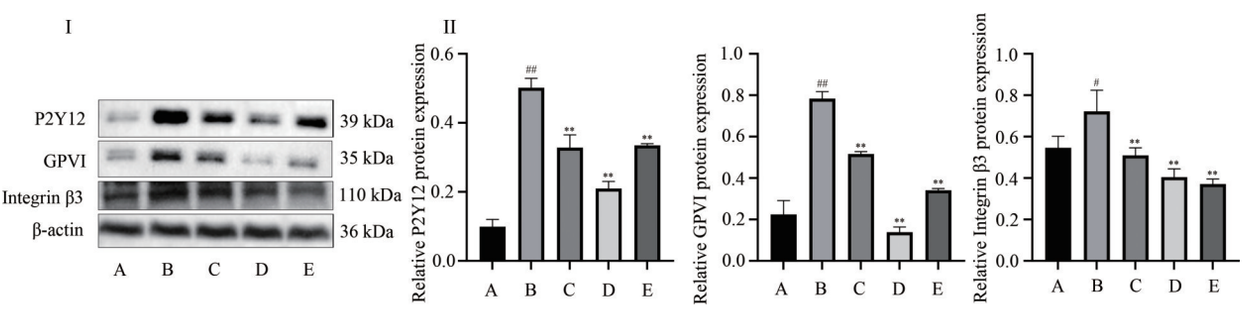


与假手术组比较，$^{\#\#}P<0.01$；与模型组比较，$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$；A：假手术组；B：模型组；C：阿司匹林组；D：SDS-TTE低剂量组；E：SDS-TTE高剂量组

图9　SDS-TTE对大鼠巨核细胞中相关mRNA表达的影响($n=3,\bar{x}\pm s$)

Fig 9　Effect of SDS-TTE on the expression of related mRNA in rat megakaryocytes($n=3,\bar{x}\pm s$)

各组大鼠巨核细胞中P2Y12、GPⅥ及Integrin β3蛋白表达被抑制，水平呈明显下降($P<0.01$)。见图10。



与假手术组比较，$^{\#}P<0.05$，$^{\#\#}P<0.01$；与模型组比较，$^{**}P<0.01$；Ⅰ：各组大鼠巨核细胞中相关蛋白表达免疫印迹代表图；Ⅱ：各组大鼠巨核细胞中相关蛋白的相对表达量；A：假手术组；B：模型组；C：SDS-TTE低剂量组；D：SDS-TTE高剂量组；E：阿司匹林组

图10　SDS-TTE对大鼠巨核细胞中相关蛋白表达的影响($n=3,\bar{x}\pm s$)

Fig 10　Effect of SDS-TTE on the expression of related proteins in rat megakaryocytes($n=3,\bar{x}\pm s$)

3　讨论

传统活血化瘀中药在心血管疾病预防治疗中的作用被广泛认可。文献报道中药中脂溶性萜类成分如鼠尾草酚等二萜类成分可通过抑制氧化应激和血管炎症等发挥保护心血管的作用，川芎嗪可有效抑制血小板活化及血栓形成[17,18]。课题组前期研究已表明，与丹参同科同属不同种植物新疆鼠尾草所含总萜成分同样表现出明显的抑制血小板聚集和抗血栓活性，但其具体作用机制还需深入研究。

血栓的形成是一个复杂的病理过程，涉及炎症反应、血小板的黏附和聚集以及凝血-纤溶系统失衡

等关键环节。促炎因子如IL-6、IL-1β和TNF-α等水平的提高可损伤血管内皮、促进血小板活化及血液高凝状态，促炎因子IL-6可激活血管内皮细胞从而促进机体处于血液高凝状态；IL-1β能促进细胞表面黏附因子的表达，导致血小板黏附于细胞上，增强血小板的聚集；TNF-α可诱导内皮细胞损伤、细胞活性物质分泌失调以及促进血液高凝状态[19,20]；同时，激动剂（如ADP、胶原和凝血酶）通过与其特异性受体（如P2Y1/P2Y12、GPⅥ/α2β1、PAR1/PAR4）结合触发信号传导，最终激活整合素αⅡbβ3和血小板的不可逆聚集，促进血栓生成[21-23]。此外，血栓前分子标志物（如PIC、t-PAIC、TM和TAT）的动态变化可反映内皮损伤、纤溶障碍及凝血系统激活状态，是血栓形成的重要指征。t-PAIC可评估纤溶功能障碍和内皮损伤情况；PIC是体内纤维蛋白溶解的敏感标志，当凝固系统与纤溶系统的动态平衡被破坏，会引起一系列的生理反应；TM是内皮细胞产生的跨膜糖蛋白，参与凝血与纤溶过程；TAT是凝血系统激活的标志物之一，其水平升高表明体内凝血过程被激活，可用于早期诊断血栓形成倾向及相关疾病[24,25]。

本实验结果发现，SDS-TTE有效降低了$FeCl_3$致大鼠血栓模型中IL-6、IL-1β和TNF-α的水平；明显降低PIC、t-PAIC、TM和TAT的水平；明显改善了血小板表面形态；有效抑制ADP、胶原和凝血酶诱导的血小板聚集；明显降低了血栓模型大鼠*GP*Ⅵ、*P2Y12*和*Integrin β3*的mRNA和蛋白表达水平，说明SDS-TTE具有抗炎、调控凝血-纤溶系统失衡、抑制血小板活化和抑制整合素αⅡbβ3被激活的作用。

本研究基于转录组学分析并结合GPⅥ信号通路，筛选得到*GP*Ⅵ、*CD151*、血小板前体碱性蛋白（*PPBP*）、桥粒蛋白（*DSP*）和*ASB9*抗原（重组蛋白）5个关键差异基因。有文献表明*GP*Ⅵ是激活血小板信号的关键受体，仅在巨核细胞谱系中表达，参与血栓形成与炎症反应；*CD151*抗原（重组蛋白）参与细胞黏附/迁移，并调节心血管功能，包括病理性血管生成、血管稳定性和血栓形成等；*PPBP*是由血小板衍生的生长因子，在血栓形成期间募集中性粒细胞到血栓部位；*DSP*的表达异常会导致心律失常；*ASB9*抗原参与肿瘤细胞生长和血管生成的信号转导[26-30]。经RT-qPCR实验验证，SDS-TTE可调控这5个关键基因的mRNA表达，与转录组测序结果一致。

综上所述，新疆鼠尾草总萜提取物可能通过抑制GPⅥ信号通路激活，协同调控炎症反应及凝血-纤溶系统功能，从而发挥抑制血小板聚集及血栓生成作用。本研究为新疆鼠尾草临床治疗血栓性疾病方面提供理论基础和实验依据。

作者贡献度说明：

王蕾：实验操作、数据分析、论文撰写与修改；王启文、阿孜古丽·阿里木、李雨欣：实验操作与指导；王新玲：提供研究思路、论文最终版本的修订；王晓梅、胡君萍、丛媛媛：研究指导。

所有作者声明不存在利益冲突关系。

参考文献

1 刘明波，何新叶，杨晓红，等.《中国心血管健康与疾病报告2023》要点解读[J]. 中国心血管杂志，2024，29(4)：305-324.
Liu MB，He XY，Yang XH，et al. Key points of report on cardiovascular health and diseases in China 2023[J]. Chin J Cardiovasc Res，2024，29(4)：305-324.

2 Martinez Bravo G，Annarapu G，Carmona E，et al. Platelets in thrombosis and atherosclerosis：A double-edged sword[J]. Am J Pathol，2024，194(9)：1608-1621.

3 Singh T，Hasan M，Gaule TG，et al. Exploiting the molecular properties of fibrinogen to control bleeding following vascular injury[J]. Int J Mol Sci，2025，26(3)：1336.

4 Tezuka Y，Kasimu R，Li J，et al. Constituents of roots of *Salvia deserta* Schang (Xinjiang-Danshen)[J]. Chemical Pharmaceutical Bullet，1998，46：107-112.

5 李敏，穆建，王晓梅，等. 新疆鼠尾草总酚酸对糖尿病大鼠肾脏蛋白激酶C活性的影响[J]. 新疆医科大学学报，2017，40(1)：75-78.
Li M，Mu J，Wang XM，et al. The effect of total salvianolic acid in *Salvia deserta* Schang on kidney protein kinase C in diabetic rats[J]. J Xinjiang Med Univ，2017，40(1)：75-78.

6 Kasimu R，Wang XL，Wang XM，et al. Antithrombotic effects and related mechanisms of *Salvia deserta* schang root EtOAc extracts[J]. Sci Rep，2018，8(1)：1-10.

7 派日黛姆·乌布勒，王新玲，热娜·卡斯木，等. 新疆鼠尾草根中6，7-去氢罗列酮的抗血小板聚集作用考察及其提取工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志，2013，19(22)：15-18.
Wubuli P，Wang XL，Kasimu R，et al. Inhibition of platelet aggregation investigation and optimization of extracting technology of 6，7-dehydroroyleanone in roots of *Salvia deserta* schang[J]. Chin J Exp Tradit Med Formul，2013，19(22)：15-18.

8 Zhao M, Wu F, Tang Z, et al. Anti-inflammatory and antioxidant activity of ursolic acid: A systematic review and meta-analysis [J]. Front Pharmacol, 2023, 14: 1256946.

9 Sureda A, Monserrat-Mesquida M, Pinya S, et al. Hypotensive effects of the triterpene oleanolic acid for cardiovascular prevention[J]. Curr Mol Pharmacol, 2021, 14(6): 935-942.

10 阿孜古丽·阿里木, 王启文, 刘阳, 等. 高效液相色谱结合Box-Behnken响应面法优选新疆鼠尾草根萜类成分提取纯化工艺[J]. 中国医院药学杂志, 2023, 43(8): 855-862.
Alimu A, Wang QW, Liu Y, et al. Optimization of extraction and purification of terpenoids from roots of *Salvia deserta* Schang by HPLC combined with Box-Behnken response surface methodology [J]. Chin J Hospital Pharm, 2023, 43(8): 855-862.

11 王启文, 王蕾, 李雨欣, 等. 基于UPLC-QE-Orbitrap-MS/MS技术分析新疆鼠尾草乙酸乙酯提取物化学成分及入血成分[J]. 新疆医科大学学报, 2024, 47(10): 1406-1417, 1430.
Wang QW, Wang L, Li YX, et al. Analysis of chemical and hematogenous components of ethyl acetate extract from *Salvia deserta* Schang Using UPLC-QE Orbitrap MS/MS Technology[J]. J Xinjiang Med Univ, 2024, 47(10): 1406-1417, 1430.

12 Zhao XL, Cao ZJ, Li KD, et al. Gallic acid: A dietary metabolite′s therapeutic potential in the management of atherosclerotic cardiovascular disease[J]. Front Pharmacol, 2025, 15: 1515172.

13 Lescano CH, Freitas de Lima F, Cardoso CAL, et al. Rutin present in Alibertia edulis extract acts on human platelet aggregation through inhibition of cyclooxygenase/thromboxane[J]. Food Funct, 2021, 12(2): 802-814.

14 Slater A, Khattak S, Thomas MR. GP Ⅵ inhibition: Advancing antithrombotic therapy in cardiovascular disease[J]. Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother, 2024, 10(5): 465-473.

15 易林, 张文豪, 向文远, 等. 基于SOX9/NF-κB/MMP-13信号通路探讨补肾痹通方含药血清对IL-1β诱导软骨细胞凋亡的影响[J]. 海南医学院学报, 2024, 30(4): 241-247.
Yi L, Zhang WH, Xiang WY, et al. Exploring the effect of Bushen bitong recipe-containing serum on IL-1β-induced chondrocyte apoptosis based on SOX9/NF-κB/MMP-13 signaling pathway[J]. J Hainan Med Univ, 2024, 30(4): 241-247.

16 王启文. 新疆鼠尾草通过巨核细胞miR-223/miR-15a-5p表达变化调控GPⅥ信号通路的抗血栓作用机制研究[D]. 乌鲁木齐:新疆医科大学, 2024.
Wang QW. Study on the mechanism of antithrombotic effect of *Salvia Deserta* Schang in regulating GP Ⅵ signaling pathway through the change of miR-223/ miR-15a-5p expression in megakaryocytes [D]. Urumqi: Xinjiang Medical University, 2024.

17 Beegam S, Zaaba NE, Elzaki O, et al. Palliative effects of carnosol on lung-deposited pollutant particles-induced thrombogenicity and vascular injury in mice[J]. Pharmacol Res Perspect, 2024, 12(3): e1201.

18 Li HX, Tian JH, Li HY, et al. Synthesis and evaluation of novel nitric oxide-donating ligustrazine derivatives as potent antiplatelet aggregation agents [J]. Molecules, 2023, 28(8): 3355.

19 Capponi A, Rostagno C. Trauma-induced coagulopathy: A review of specific molecular mechanisms[J]. Diagnostics (Basel), 2025, 15(11): 1435.

20 Gupta R, Alkhalfan F, Wheeler J, et al. Biomechanical platelet activation: Diseases that require a new class of antiplatelet therapeutics[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2025, 328(6): C1831-C1836.

21 Rajput S, Malviya R, Srivastava S, et al. Cardiovascular disease and thrombosis: Intersections with the immune system, inflammation, and the coagulation system [J]. Ann Pharm Fr, 2025, 83(2): 228-250.

22 Dri E, Lampas E, Lazaros G, et al. Inflammatory mediators of endothelial dysfunction[J]. Life (Basel), 2023, 13(6): 1420.

23 阿孜古丽·阿里木. 基于网络药理学和miR-223/miR-15a-5p表达变化的新疆鼠尾草根总萜抗血栓作用及其机制研究[D]. 乌鲁木齐:新疆医科大学, 2023.
Alimu A. Study of antithrombotic effect and mechanism from the total terpenes of *Salvia deserta* schang based on network pharmacology and expression changes of miR-223/miR-15a-5p [D]. Urumqi: Xinjiang Medical University, 2023.

24 Liao C, Liu G, Li L, et al. Predictive value of thrombin-antithrombin Ⅲ complex and tissue plasminogen activator-inhibitor complex biomarkers in assessing the severity of early-stage acute pancreatitis[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2024, 39(10): 2088-2096.

25 Lu T, Yan H, Luo J, et al. Elevated thrombosis-related biomarkers as predictors of disease severity and mortality in patients with severe fever with thrombocytopenia syndrome[J]. BMC Infect Dis, 2025, 25(1): 235.

26 Guo YW, Luo Q, Lu M, et al. Platelet glycoprotein Ⅵ promotes folic acid-induced acute kidney injury through interaction with tubular epithelial cell-derived galectin-3 [J]. Cell Commun Signal, 2025, 23(1): 148.

27 Chen J, Ding Y, Jiang C, et al. CD151 Maintains endolysosomal protein quality to inhibit vascular inflammation[J]. Circ Res, 2024, 134(10): 1330-1347.

28 Yin DM, Yuan D, Sun RJ, et al. Identification of ORM1, vWF, SPARC, and PPBP as immune-related proteins involved in immune thrombocytopenia by quantitative LC-MS/MS [J]. Clin Proteomics, 2023, 20(1): 24.

29 Laredo M, Charpentier E, Soulez S, et al. Imaging features of desmoplakin arrhythmogenic cardiomyopathy: A comparative cardiovascular magnetic resonance study [J]. J Cardiovasc Magn Reson, 2025, 27(1): 101867.

30 Liu L, Yang Y, Yu D. Identification of key miRNAs and their targets in peripheral blood mononuclear cells of IgA nephropathy using bioinformatics analysis[J]. Medicine (Baltimore), 2021, 100(26): e26495.

[本文编辑] 朱 昊