

参麦注射液对阿霉素所致心肌炎症损伤的保护作用

潘星宇¹, 杨 林², 张 升^{2*}

(1. 海宁市第二人民医院, 浙江 海宁 314419; 2. 浙江省医学科学院, 浙江 杭州 310013)

摘要: **目的** 研究参麦注射液对阿霉素所致心肌炎症损伤的保护作用。**方法** 采用阿霉素建立大鼠心肌损伤模型, 50 只SD 大鼠随机分为正常组、模型组 (15 mg/kg 阿霉素) 及参麦注射液低、中、高剂量组 (0.1、0.3、1 g/kg)。心脏超声技术检测大鼠心肌功能, 血清生化学检测心肌相关酶 (AST、LDH、CK-MB), ELISA 法检测各组大鼠心脏组织匀浆中 IL-6、IL-10、TNF- α 水平, Western blot 检测大鼠心肌组织内 NF- κ B、p-NF- κ B 蛋白表达。**结果** 与模型组比较, 参麦注射液组大鼠心率、心搏出量、射血分数显著升高 ($P<0.05$, $P<0.01$); 血清心肌酶 (AST、LDH、CK-MB) 水平显著降低 ($P<0.05$, $P<0.01$); 炎症因子 IL-6、TNF- α 水平显著下降, IL-10 水平显著上升 ($P<0.05$, $P<0.01$), NF- κ B 蛋白磷酸化水平显著降低 ($P<0.01$)。**结论** 参麦注射液能够有效的拮抗阿霉素诱导的心肌损伤, 且这种保护作用可能与降低阿霉素诱导的心肌炎症通路机制相关。

关键词: 参麦注射液; 阿霉素; 炎症; 心肌损伤

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2019)11-2632-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2019.11.015

Protective effects of Shenmai Injection on myocardial inflammatory damage due to doxorubicin

PAN Xing-yu¹, YANG Lin², ZHANG Sheng^{2*}

(1. The Second People's Hospital of Haining, Haining 314419, China; 2. Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, China)

KEY WORDS: Shenmai Injection (SMI); doxorubicin (DOX); inflammation; myocardial damage

阿霉素 (Doxorubicin, DOX), 又称多柔比星, 是临床上广泛用于治疗各类恶性肿瘤的蒽醌类化疗药物。然而严重的剂量依赖性心脏毒副作用影响了阿霉素的临床使用空间^[1-2]。阿霉素致心脏毒性的机制尚不完全清楚, 传统研究认为, 阿霉素的心脏毒性主要因为阿霉素在体内代谢后生成半醌自由基, 进而接到氧自由基损伤心肌细胞^[3]。而在近些年的研究中发现, 阿霉素诱导的心肌组织炎症在阿霉素心脏毒性机制中发挥着重要的作用^[4]。

参麦注射液 (Shenmai Injection, SMI) 源于参麦散名方, 由人参、五味子、麦冬组成, 经现代制剂工艺加工成的注射制剂。具有益气固脱, 养阴生津的作用, 现代药理学证明参麦注射液具有抗氧化应激和抗炎的作用^[5-6]。临床上参麦注射液被广泛用于治疗心脑血管疾病, 因此本实验通过研究参麦

注射液拮抗阿霉素诱导的心肌炎症损伤来揭示参麦注射液的抗炎作用, 并通过研究 NF- κ B 通路的变化揭示在参麦注射液的抗心肌炎分子机理。

1 材料

1.1 动物 SPF 级健康 SD 大鼠, 50 只, 雌雄各半, 由上海斯莱克实验动物有限责任公司供应。动物生产许可证号 SCXK (沪) 2017-0005。饲养于温度 20~25 ℃, 相对湿度 50%~60% 的条件下。在整个试验期间, 大鼠自由饮水, 喂养⁶⁰Co 辐照的全价营养颗粒饲料, 由南京安立默科技有限公司生产供应。

1.2 试药 阿霉素由武汉远成共创科技有限公司生产, 含有量为 99%, 批号 20170723。参麦注射液购自于正大青春宝药业有限公司, 批号 1804205。IL-6、IL-10、TNF- α ELISA 试剂盒产自

收稿日期: 2019-01-07

基金项目: 浙江省中医药科技计划项目 (2019ZB020)

作者简介: 潘星宇 (1984—), 男, 主任药师, 从事药物临床使用研究。E-mail: panxy818@sina.com

* 通信作者: 张 升 (1984—), 男, 硕士, 助理研究员, 从事药物毒理研究。E-mail: zhangsheng160@sina.com.cn

武汉华美科技有限公司；*p*-NF-κB、NF-κB 一抗由 CST 生产，β-actin 一抗、HRP 二抗购自于上海碧云天公司。

1.3 仪器 电泳仪为 Bio-rad 垂直电泳槽；显影仪（上海勤翔科学仪器有限公司，ChemiScope）；生化仪（日本日立公司）；心脏超声检测系统（加拿大，Vevo 1100）。

2 方法

2.1 分组及给药 50 只健康 SD 大鼠，雌雄各半，随机分为正常组、模型组（15 mg/kg 阿霉素）及参麦注射液低、中、高剂量组（0.1、0.3、1 g/kg），每组 10。对照组按 1 mL/100 g 剂量于实验第 1、3、5、7 天分别给予生理盐水；模型组实验第 1、3、5 天给予等容量的生理盐水，于第 7 天给予阿霉素 15 mg/kg；参麦注射液组于实验第 1、3、5 天给予不同剂量（0.1、0.3、1 g/kg）的参麦注射液，于第 7 天给予阿霉素 15 mg/kg。所有组动物于静脉注射阿霉素 72 h 后（实验第 10 天）麻醉做心脏超声检查。超声检查结束后腹主动脉收集各大鼠外周血用于血清心肌酶检测；血液收集后处死大鼠收集各组大鼠心脏备用。

2.2 心脏功能超声检测 各组动物检测时通过吸入 3% 浓度的异氟烷进入麻醉，继而以吸入 1% 浓度的异氟烷维持麻醉。动物麻醉后，背位固定，左胸前区脱毛待检。当大鼠心率趋于持续性、稳定性时开始检测，在进行超声过程中保持大鼠正常的生理状态。以高频探头进行定位，将探头至于左胸部，取胸骨旁短轴切面，置于二尖瓣腱索水平，M 模式超声心动评价心脏运动，分别检测心率（HR）和心搏出量（CO），计算射血分数 [EF（%）]。

2.3 血清生化学检测 各组大鼠外周血收集后，静止 30 min 后，2 500 r/mim 离心 15 min，收集上清。使用日立全自动血清生化仪检测血清中的心肌相关酶（AST、LDH、CK-MB）。

2.4 心脏组织中炎症因子检测 取各组大鼠心脏 0.1 g，加入 1 mL 生理盐水后匀浆，1 500 r/min 离心后收集上清液。按试剂盒步骤进行 ELISA 测定。

2.5 炎症通路相关蛋白检测 各组大鼠剪取各心脏组织约 0.1 g，加入 RIPA 裂解液 1 mL，组织匀浆机充分匀浆，裂解 30 min 后，12 000 g/mim 离心 10 min，收集上清。采用 BCA 法进行蛋白定量。总蛋白经 SDS PAGE 分离后，转移到 PVDF 膜上，5% 脱脂奶粉封闭 1 h，分别加入一抗，4 ℃ 孵育过夜。次日，用 TBST 洗膜 3 次，使用 TBST 稀释的辣根过氧化物酶（HRP）标记的二抗室温孵育 90 min，TBST 洗膜 3 次后用化学发光法显影，采用 Image J 软件进行条带分析。

2.6 统计学分析 采用 Excel 和 SPSS 统计分析进行数据处理，计量资料用 ($\bar{x} \pm s$) 表示，组间比较采用单因素方差分析；多重比较用 LSD 法，*P* < 0.05 差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 参麦注射液对大鼠心肌功能的影响 正常组大鼠心脏大小正常，心肌厚度均一，心脏搏动有力、平稳，心包无积液，未见心房与静脉回流；模型组大鼠可见心室肌增厚，心脏搏动减慢且出现搏动不规律，偶见静脉回流；参麦注射液组大鼠心肌增厚现象消失，心脏搏动恢复正常，未见心包积液或静脉回流。与正常组比较，模型组大鼠心率、心搏出量、射血分数显著降低（*P* < 0.01）；参麦注射液（0.3、1 g/kg）组大鼠心率、心搏出量、射血分数显著上升（*P* < 0.05，*P* < 0.01）。见图 1。

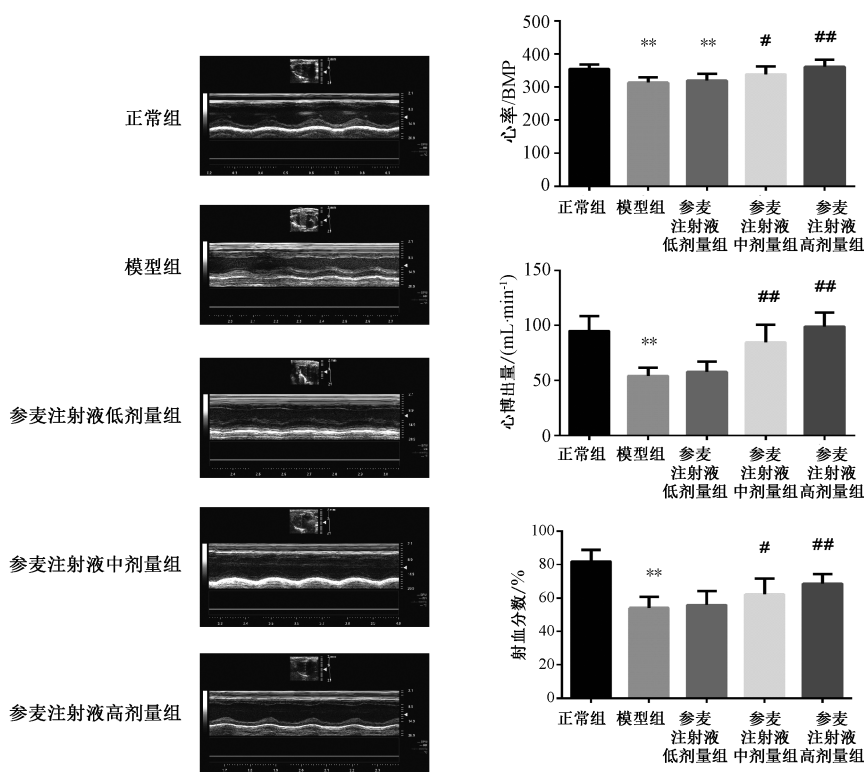
3.2 参麦注射液对大鼠血清心肌酶的影响 与正常组比较，模型组心肌酶指标（AST、LDH、CK-MB）水平显著上升（*P* < 0.01）。与模型组比较，参麦注射液高剂量组心肌酶指标水平显著下降（*P* < 0.05，*P* < 0.01）；中剂量组 LDH、CK-MB 水平均显著下降（*P* < 0.05）。见表 1。

表 1 参麦注射液对大鼠血清心肌酶的影响 ($\bar{x} \pm s$ ，*n* = 10)

Tab. 1 Effects of SMI on myocardial serum enzymes in rats ($\bar{x} \pm s$ ，*n* = 10)

组别	AST/(IU·L ⁻¹)	LDH/(IU·mL ⁻¹)	CK-MB/(U·L ⁻¹)
正常组	60.89±31.04	319.26±59.30	446.34±96.26
模型组	108.91±39.70**	446.03±108.93**	615.04±111.37**
参麦注射液低剂量组	81.41±26.08	410.86±122.4	573.83±171.27
参麦注射液中剂量组	83.39±10.91	348.96±73.09 [#]	514.23±52.88 [#]
参麦注射液高剂量组	65.83±27.23 [#]	339.39±57.06 [#]	463.62±99.23 ^{##}

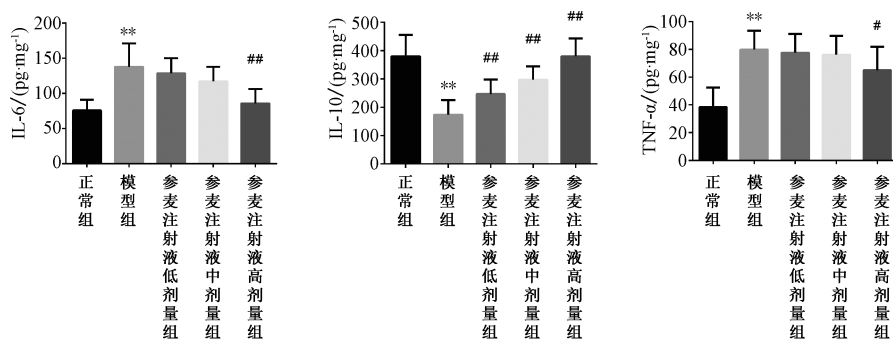
注：与正常组比较，** *P* < 0.01；与模型组比较，[#] *P* < 0.05，^{##} *P* < 0.01



注：与正常组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$

图 1 参麦注射液对大鼠心肌功能的影响 (n=10)

Fig. 1 Effects of SMI on myocardial function in rats (n=10)



注：与正常组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$

图 2 参麦注射液对大鼠心肌组织中炎症因子的影响

Fig. 2 Effects of SMI on myocardial inflammatory factors in rats

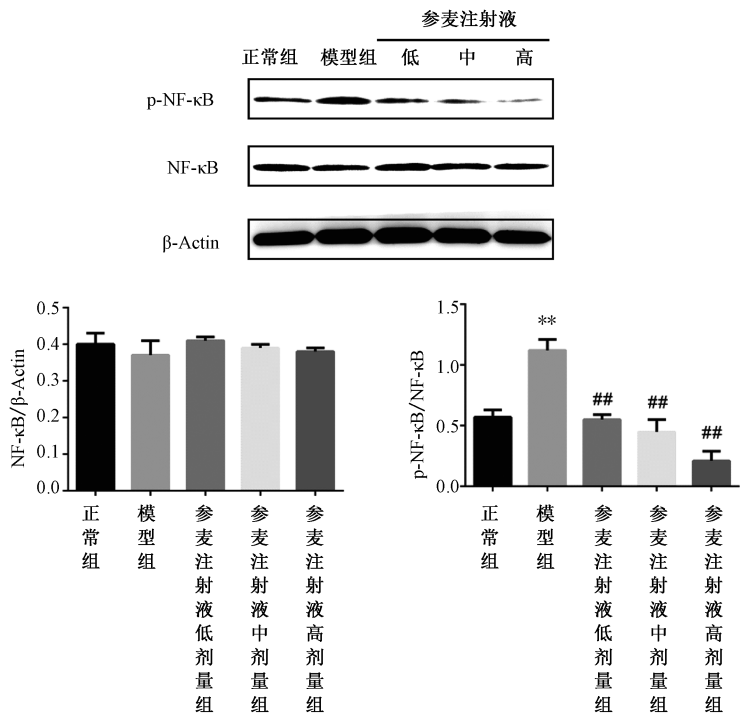
3.3 参麦注射液对大鼠心肌炎症因子的影响 图 2 表明，与正常组比较，模型组大鼠心脏组织中促炎因子 IL-6、TNF-α 水平显著升高 ($P<0.01$)，抗炎因子 IL-10 水平显著下降 ($P<0.01$)。与模型组比较，参麦注射液高剂量组能显著逆转以上炎症因子水平 ($P<0.05$, $P<0.01$)；而参麦注射液低、中剂量组能明显上调 IL-10 水平 ($P<0.01$)。

3.4 参麦注射液对大鼠心肌组织 NF-κB 磷酸化的影响 与正常组比较，模型组 p-NF-κB 蛋白表达明显升高 ($P<0.01$)；经参麦注射液干预后，给药

组大鼠心脏组织内 p-NF-κB 蛋白表达显著降低 ($P<0.01$)。见图 3。

4 讨论

阿霉素作为蒽醌类药物，具有广谱的抗肿瘤活性，但也同时因为存在急性、亚慢性和慢性的心脏毒性使临床使用受限^[8]。参麦注射液源于《病因脉治》中的参冬饮。主要用于益气固脱，养阴生津，生脉。用于治疗气阴两虚之冠心病、病毒性心肌炎和慢性肺心病。参麦注射液是中国传统医学与现代制剂工艺结合产生的中药注射剂，临床上用于



注：与正常组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$

图 3 参麦注射液对大鼠心肌组织 p -NF-κB 蛋白表达的影响 ($n=10$)

Fig. 3 Effects of SMI on the expression of p -NF-κB protein in rat myocardia ($n=10$)

治疗心血管疾病。同时参麦注射液能够提高肿瘤病人的免疫机能，与化疗药物合用时有增效作用，因其自身也具有一定的抗肿瘤活性，在临床上常用于抗肿瘤的辅助用药^[7]。本研究也验证了参麦注射液联合化疗药物使用时能够保护心脏组织，为中医药临床研究提供了临床前实验数据，指导临床对参麦注射液的开发使用。

阿霉素诱导的心脏毒性机制具有多样性的特点，尚未完全明确。一般认为氧化应激是阿霉素心脏毒性的主要毒理机制，而其他如细胞代谢异常，损伤细胞线粒体和炎症反应也被视为阿霉素诱导心肌损伤的重要因素^[9]。事实上，临床中发现阿霉素的使用能够激活机体固有免疫，释放炎症因子导致心脏病理性改变^[10]。参麦注射液通过提高机体免疫功能，降低炎症因子的释放，改善心肌组织炎症反应保护心肌组织^[11]。本实验一次性注射给予 15 mg/kg 阿霉素造成大鼠急性心脏毒性，心肌组织中 IL-6 和 TNF-α 等促炎因子升高和 IL-10 抗炎因子降低。IL-6 和 TNF-α 可通过增加中性粒细胞和吞噬细胞的功能，激活大量的过氧化物阴离子，从而引发自由基攻击细胞膜及其细胞器的磷脂膜，导致心肌细胞损伤。又由于心肌细胞本身不具有再生的功能，心肌细胞损伤容易诱发心脏收缩和舒张障

碍，心率 (HR) 下降，心肌泵血能力 (CO、EF) 降低等心脏功能异常。在大鼠外周血血清中检测到 AST、LDH 和 CK-MB 等心肌酶升高也证实了阿霉素的急性损伤作用。而提前给予参麦注射液的大鼠，上述症状均有显著改善，且部分指标具有剂量依赖性。参麦注射液能够通过减少炎症反应，保护心肌细胞，恢复心肌功能来拮抗阿霉素诱导的心脏毒性。

NF-κB 信号通路是细胞内最为重要的炎症诱导分子通路。使促炎因子 TNF-α 和白介素等胞外信号均能引起 NF-κB 通路的激活的激活。NF-κB 蛋白是调控细胞炎症的关键转录因子，其 P65 亚基的磷酸化是 NF-κB 激活的标志^[12]。本研究发现，大鼠给予阿霉素 72 h 后，心脏组织内 NF-κB 的磷酸化程度升高，提示 NF-κB 信号通路激活。参麦注射液能够通过降低阿霉素升高的 p -NF-κB，阻断 NF-κB 信号通路启动，减少炎症的产生，提示参麦注射液的抗炎作用与抑制 NF-κB 通路有关。此外，NF-κB 信号通路的激活对肿瘤的转移具有明显的促进作用^[13]，参麦注射液能抑制阿霉素升高的 NF-κB 磷酸化，也提示了参麦注射液能够有效辅助阿霉素治疗肿瘤的恶性转移。

综上所述，参麦注射液能够有效的拮抗阿霉素

诱导的心肌损伤，且这种保护作用体现在抑制阿霉素诱导的心肌炎症的产生，保护心肌功能，并调控 NF- κ B 信号通路抑制细胞内炎症通路的激活。因此，参麦注射液在临床上能够作为阿霉素抗肿瘤的辅助用药。

参考文献：

[1] Rochette L, Guenancia C, Gudjoncik A, *et al.* Anthracyclines/trastuzumab; new aspects of cardiotoxicity and molecular mechanisms[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2015, 36(6): 326-348.

[2] Christiansen S, Autschbach R. Doxorubicin in experimental and clinical heart failure[J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2006, 30(4): 611-616.

[3] Gilliam L A, Moylan J S, Patterson E W, *et al.* Doxorubicin acts via mitochondrial ROS to stimulate catabolism in C2C12 myotubes[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2012, 302(1): C195-202.

[4] Wang L, Chen Q, Qi H, *et al.* Doxorubicin-induced systemic inflammation is driven by upregulation of toll-like receptor TLR4 and endotoxin leakage [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(22): 6631-6642.

[5] 朱利洁, 于佳慧, 曹文杰, 等. 参脉注射液对心肌保护作用的临床和基础研究[J]. *时珍国医国药*, 2015, 26(5): 1216-1218

[6] 蒋 鹏, 赵 明, 谷腾飞, 等. 参麦注射液预先给药对心

肌缺血-再灌注损伤大鼠心肌 HMGB-1 表达的作用[J]. *临床麻醉学杂志*, 2013, 28(11): 1102-1104.

[7] Liu W Y, Zhang J W, Yao X Q, *et al.* Shenmai injection enhances the cytotoxicity of chemotherapeutic drugs against colorectal cancers via improving their subcellular distribution[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2017, 38(2): 264-276.

[8] Outomuro D, Grana D R, Azzato F, *et al.* Adriamycin-induced myocardial toxicity: new solutions for an old problem? [J]. *Int J Cardiol*, 2007, 117(1): 6-15.

[9] Salazar-Mendiguchía J, González-Costello J, Roca J, *et al.* Anthracycline-mediated cardiomyopathy: basic molecular knowledge for the cardiologist[J]. *Arch Cardiol Mex*, 2014, 84(3): 218-223.

[10] Riad A, Bien S, Wastermann D, *et al.* Pretreatment with statin attenuates the cardiotoxicity of doxorubicin in mice[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(2): 695-699.

[11] 张绿浪, 胡清亮, 邓长刚, 等. 参麦注射液联合常规抗结核药物对肺结核患者的临床疗效、免疫功能及炎症因子水平的影响[J]. *现代医学*, 2018, 46(11): 1266-1270.

[12] Yu X H, Zheng X L, Tang C K. Nuclear factor- κ B activation as a pathological mechanism of lipid metabolism and atherosclerosis[J]. *Adv Clin Chem*, 2015, 70: 1-30.

[13] 朱建华, 胡 娜, 赵 岚, 等. 高迁移率族蛋白 B1 激活 NF- κ B/ α v β 3 而增加 A549 细胞迁移与侵袭能力[J]. *中国癌症杂志*, 2015, 25(2): 105-111.



沉痛悼念《中成药》编委会主任委员任德权同志

原国家食品药品监督管理局副局长、《中成药》编辑部编委会主任委员任德权同志，因意外跌倒致颅脑严重创伤，经抢救医治无效，于 2019 年 10 月 25 日 10 点 40 分，在上海不幸与世长辞，享年 75 岁。2019 年 10 月 29 日上午，任德权同志遗体告别仪式在上海龙华殡仪馆银河厅举行，党和国家领导人李克强，国务委员王勇、肖捷，及彭佩云、桑国卫、张文康、张文周、焦红等领导送了花圈。国家食品药品监督管理总局部分老领导、上海市政府相关领导、各行业团体、科研机构、高等院校、医药企业等单位的领导，任德权同志的家人亲属、生前友好与各界朋友等 300 多人参加了告别仪式，与任德权同志作最后的告别。

任德权同志的一生，是奋斗的一生、奉献的一生，他把毕生精力献给了我国的医药事业，为我国医药事业、药品监督管理事业的改革和发展作出了重要贡献，受人尊敬，树立了崇高的榜样。任德权同志生前担任《中成药》编辑部编委会主任委员期间，也十分关心编辑部工作的开展与发展，经常给予直接的指导与帮助，亲力亲为，身体力行，传道授业解惑，引领了《中成药》期刊的进步与发展，让我们崇敬与景仰。

沉痛悼念任德权同志，斯人已逝，精神长存，永垂不朽！

《中成药》编辑部
2019 年 10 月 29 日