

芪苈强心通过 p-Erk/Nrf2 通路对心肌梗死小鼠细胞凋亡的影响

罗心霞¹, 马石楠¹, 周君阳¹, 王 珏², 丁 妍¹, 李东升^{1*}
(1. 湖北医药学院 胚胎干细胞研究湖北省重点实验室, 湖北 十堰 442000; 2. 湖北医药学院 基础医学院 病理教研室, 湖北 十堰 442000)

摘要: **目的** 探讨芪苈强心通过 p-Erk/Nrf2 通路对心肌梗死小鼠细胞凋亡的影响。**方法** 采用结扎左冠状动脉前降支建立小鼠心肌梗死模型, 小鼠随机分为假手术+生理盐水组、心肌梗死+生理盐水组、假手术+芪苈强心组 (0.25 g/kg)、心肌梗死+芪苈强心组 (0.25 g/kg)、心肌梗死+芪苈强心组 (0.5 g/kg)、心肌梗死+芪苈强心组 (0.75 g/kg), 灌胃给药 28 d。彩色多普勒超声诊断仪检测各组小鼠心功能; 体外, 通过 CoCl₂ (600 μmol/L) 处理 H9c2 细胞 12 h 建立心肌细胞缺氧损伤模型, 芪苈强心 (0.25 mg/mL) 及 Erk 抑制剂 (PD98059, 20 μmol/L) 预处理 H9c2 细胞 24 h, Western blot 检测小鼠心肌组织及 H9c2 细胞 Erk、p-Erk、Nrf2、Bcl-2、Bax 的表达。**结果** 芪苈强心 (0.25 g/kg) 可改善心梗小鼠心功能, 上调 Bcl-2、p-Erk、Nrf2 表达, 下调 Bax 表达。体外实验结果与体内结果一致, 同时 Erk 抑制剂处理能明显逆转芪苈强心的作用。**结论** 芪苈强心可能通过激活 p-Erk 的表达, 促进 Nrf2 表达, 进而启动下游基因表达, 从而缓解小鼠心梗后细胞凋亡。
关键词: 芪苈强心; 心肌梗死; 凋亡; p-Erk; Nrf2
中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2020)09-2306-06
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2020.09.011

Effects of Qiliqiangxin on cell apoptosis via p-Erk/Nrf2 pathway regulation in mice with myocardial infarction

LUO Xin-xia¹, MA Shi-nan¹, ZHOU Jun-yang¹, WANG Jue², DING Yan¹, Li Dong-sheng^{1*}
(1. Hubei Provincial Key Laboratory of Embryonic Stem Cell Research, Hubei University of Medicine, Shiyan 442000, China; 2. Department of Pathology, Basic Medical College, Hubei University of Medicine, Shiyan 442000, China)

ABSTRACT: **AIM** To investigate the effects of Qiliqiangxin (QLQX) on cell apoptosis through p-Erk/Nrf2 pathway in mice with myocardial infarction (MI). **METHODS** The MI mouse models were established by ligating the anterior descending branch of left coronary artery. The mice were randomly divided into groups for different types of intervention: sham operation and saline; MI and saline; sham operation and QLQX (0.25 g/kg); MI and QLQX (0.25 g/kg); MI and QLQX (0.5 g/kg); MI and QLQX (0.75 g/kg). And the intragastric administrations went on for 28 days. Color Doppler ultrasound diagnostic apparatus was used to detect the mice cardiac function. *In vitro*, H9c2 cells were subjected to 12 h treatment of CoCl₂ (600 μmol/L) to establish a cardiomyocyte hypoxia injury model, and 24 h QLQX (0.25 mg/mL) and Erk inhibitor (PD98059, 20 μmol/L) pretreatment. Western blot was used to detect the expression of Erk, p-Erk, Nrf2, Bcl-2 and Bax in mouse myocardium and H9c2 cells. **RESULTS** QLQX (0.25 g/kg) improved the cardiac function of MI mice, up-regulated the expression of Bcl-2, p-Erk and Nrf2, and down-regulated Bax expression. The results of *in vitro* experiments are consistent with those of *in vivo* experiments, and Erk inhibitor treatment significantly reversed the effect of cardiotonic QLQX. **CONCLUSION** QLQX may promote the Nrf2 expression by activating p-Erk expression to initiate down-

收稿日期: 2019-11-11
基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目 (81602297); 广西自然科学基金 (2018JJA140751); 湖北医药学院自由探索基金 (FDFR201803)
作者简介: 罗心霞 (1984—), 女, 硕士, 主治医师, 从事心血管疾病预防研究。E-mail: 550603187@qq.com
* 通信作者: 李东升 (1960—), 男, 博士, 教授, 从事干细胞及心血管疾病预防研究。E-mail: dsl1698@126.com

stream gene expression, thereby alleviate apoptosis in MI mice.

KEY WORDS: Qiliqiangxin (QLQX); myocardial infarction (MI); apoptosis; p-Erk; Nrf2

心肌梗死 (myocardial infarction, MI) 是冠状动脉持续性缺血缺氧, 导致相应心肌缺血坏死, 可并发恶性心律失常、心力衰竭、休克等, 严重者可危及生命, 是人类死亡的主要原因之一^[1]。MI 在大多数发达国家有较高的发病率和死亡率, 已成为一个重要的健康问题^[2]。氧化应激是心梗后心肌细胞凋亡的重要原因^[3]。心肌细胞凋亡参与心肌梗死的发生、发展^[4]。心梗后心肌细胞凋亡增加, 心脏重塑, 最终导致心力衰竭^[5]。因此, 抑制心梗后氧化应激, 减轻心肌细胞凋亡对心梗治疗有重要意义。芪苈强心 (Qiliqiangxin, QLQX) 是一种特殊的传统中药, 具有抑制氧化应激^[6]、抑制细胞凋亡^[7]等作用。目前国内对该药在心力衰竭作用机制方面研究较多, 也有研究发现芪苈强心对心肌梗死有改善作用^[8], 而芪苈强心对心梗后细胞凋亡的影响及具体作用机制目前研究较少。

细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases, Erk) 是内质网膜上一种跨膜信号蛋白, 氧化应激时 Erk 会自身聚合磷酸化活化, p-Erk 调节下游分子发挥抗氧化应激作用。研究发现, 核因子 NF-E2 相关因子 (Nuclear factor-erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 是 p-Erk 的底物^[9]。Nrf2 属于 CNC (Cap'n' Collar) 家族转录因子, 是抗氧化应激的核心因子。研究发现 Nrf2 及其下游基因通过抗氧化应激对心肌损伤产生保护作用^[10]。本研究通过建立小鼠心肌梗死和 H9c2 细胞缺氧损伤模型, 观察芪苈强心对心梗后细胞凋亡的影响并探讨其可能机制。

1 材料

1.1 药物与试剂 芪苈强心胶囊 (批号 Z20040141) 购自石家庄以岭药业股份有限公司, 称取芪苈强心胶囊粉末用无菌生理盐水稀释为质量浓度 25 mg/mL 溶液, 用于小鼠灌胃; 称取芪苈强心胶囊粉末用 DMEM 完全培养基稀释为质量浓度 25 mg/mL 溶液, 用于细胞培养。p-Erk 抗体 (货号 4370S) 购自美国 Cell Signaling Technology 公司; Erk 抗体 (货号 AF1051)、Tublin 抗体 (货号 AF001) 购自上海碧云天生物技术有限公司; Nrf2 抗体 (货号 16396-1-AP)、Bcl-2 抗体 (货号 12789-1-AP)、Bax 抗体 (货号 50599-2-Ig) 购自美国 proteintech 公司; DMEM (货号 12100046)、胎

牛血清 (货号 16140071) 购自美国 Gibco 公司; 辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG (H+L) (货号 A0208)、BCA 蛋白浓度试剂盒 (货号 P0011)、极超敏 ECL 化学发光显影液试剂盒 (货号 P0018FM)、Erk 抑制剂 PD98059 (货号 S1805) 购自上海碧云天生物技术有限公司。

1.2 动物与细胞 80 只健康雄性 C57BL/6 小鼠, 8~10 周, 购自湖北医药学院实验动物中心, 生产许可证号 SCXK (鄂) 2016-0008, 饲养在湖北医药学院动物实验中心 SPF 级动物房中, 动物饲养、处理和手术过程由湖北医药学院动物保护与使用委员会审核、批准和监督。H9c2 细胞由湖北医药学院贺细菊老师赠予, 在 5% CO₂、37 ℃ 饱和湿度的培养条件下培养 H9c2 细胞。

2 方法

2.1 造模 将 80 只小鼠根据随机数字表法分为假手术组 ($n=10$)、心肌梗死组 ($n=20$)、假手术+芪苈强心组 (0.25 g/kg) ($n=10$)、心肌梗死+芪苈强心组 (0.25 g/kg) ($n=20$)、心肌梗死+芪苈强心组 (0.5 g/kg) ($n=10$)、心肌梗死+芪苈强心组 (0.75 g/kg) ($n=10$)。心肌梗死模型的建立, 小鼠前胸部备皮, 异氟烷气雾 (1.5%~2%) 麻醉小鼠。胸骨左缘 3~4 肋间开胸, 暴露心脏, 小心剥离心包, 找到左心耳, 于左心耳下方约 2 mm 处用 6~0 眼科带针缝合线结扎左冠状动脉前降支, 然后逐层关闭胸腔。假手术组开胸, 但不结扎左冠状动脉前降支, 其余步骤同手术组。于术后第 2 天, 小鼠灌胃给药, 给药 28 d。

2.2 组织蛋白的提取 将心脏标本取出后, 每 10 mg 心脏组织加 100 μ L 的裂解液 (含 1% PMSF 和 2% 磷酸酶抑制剂) 用电动研磨杵匀浆, 匀浆后样品置于冰上裂解 30 min, 每 10 分钟涡旋振荡 15 s, 充分裂解组织细胞。于 4 ℃ 下, 12 000 r/min 离心 10 min, 离心之后取上清液备用。

2.3 超声心动图检测 给药处理 28 d 后, 异氟烷气雾麻醉小鼠, 脱毛膏脱去胸前区毛发, 用彩色多普勒超声诊断仪对各组小鼠进行心脏超声心动图检测。用 M 型超声测定左室舒张末期容积 (LVEDV)、左室收缩末期容积 (LVESV)、左室射血分数 (LVEF) 和左室短轴缩短率 (LVFS)。

2.4 细胞处理 取生长状态良好的细胞分为对照组

(正常培养)、缺氧组(正常培养液中加入600 μmol/L CoCl₂处理12 h);芪苈强心组(缺氧组基础上加入0.25 mg/mL 芪苈强心预处理24 h);Erk抑制剂组(芪苈强心组基础上加入Erk抑制剂20 μmol/L PD98059处理24 h)。加入含1% 苯甲基磺酰氟(PMSF)和2% 磷酸酶抑制剂的裂解液(RIPA)100 μL,待细胞充分裂解30 min后,刮细胞使细胞悬浮,将细胞悬液移入EP管中,于4℃下,12 000 r/min离心10 min,上清即为蛋白样品。

2.5 Western blot 检测 BCA法测定组织及细胞蛋白浓度。将蛋白样品和SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(5×)按比例混匀,100℃变性10 min。12%聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),用湿转法(0.28 mA、90 min)转至PVDF膜(0.4 nm),5%的脱脂奶粉室温下封闭2 h,加入一抗4℃孵育过夜。TBST洗涤3次,10 min/次。室温下孵育二抗2 h, TBST洗涤3次,10 min/次。Image Lab进行显影。Image J软件进行条带灰度分析。

2.6 RTCA 检测细胞增殖 采用实时无标记动态细胞分析技术。常规培养H9c2细胞达到对数生长期时用0.25%胰酶消化,制成单细胞悬液,细胞

计数。每孔按3 000个细胞接种于无菌的细胞增殖孔板(E-plate 16孔板)中,每孔100 μL细胞悬液。加入0.125、0.25、0.5、1.0 mg/mL 芪苈强心,并设立对照组,3个复孔。按照仪器使用说明书,将E-plate 16孔板放人事先调试好的仪器中培养30 h,自动实时记录细胞增殖情况并绘制曲线。

2.7 统计学分析 采用GraghaPad Prism6软件对数据进行分析并作图。两组间比较采用*t*检验,多组间比较采用单因素方差分析。以*P*<0.05为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 芪苈强心对心梗小鼠心功能的影响 0.5、0.75 g/kg 芪苈强心对MI小鼠心功能没有明显改善作用(图1A);0.25 g/kg 芪苈强心可改善MI小鼠心功能(图1A~C),而对假手术组小鼠心功能没有影响(图1B~C)。Western blot检测显示,0.25 g/kg 芪苈强心可上调MI小鼠Bcl-2表达(*P*<0.05,图1D~E),下调Bax表达(*P*<0.05,图1D~E),而0.25 g/kg 芪苈强心对假手术组小鼠凋亡标志物蛋白(Bcl-2、Bax)没有影响(图1D~E)。后续动物实验采用0.25 g/kg 芪苈强心。

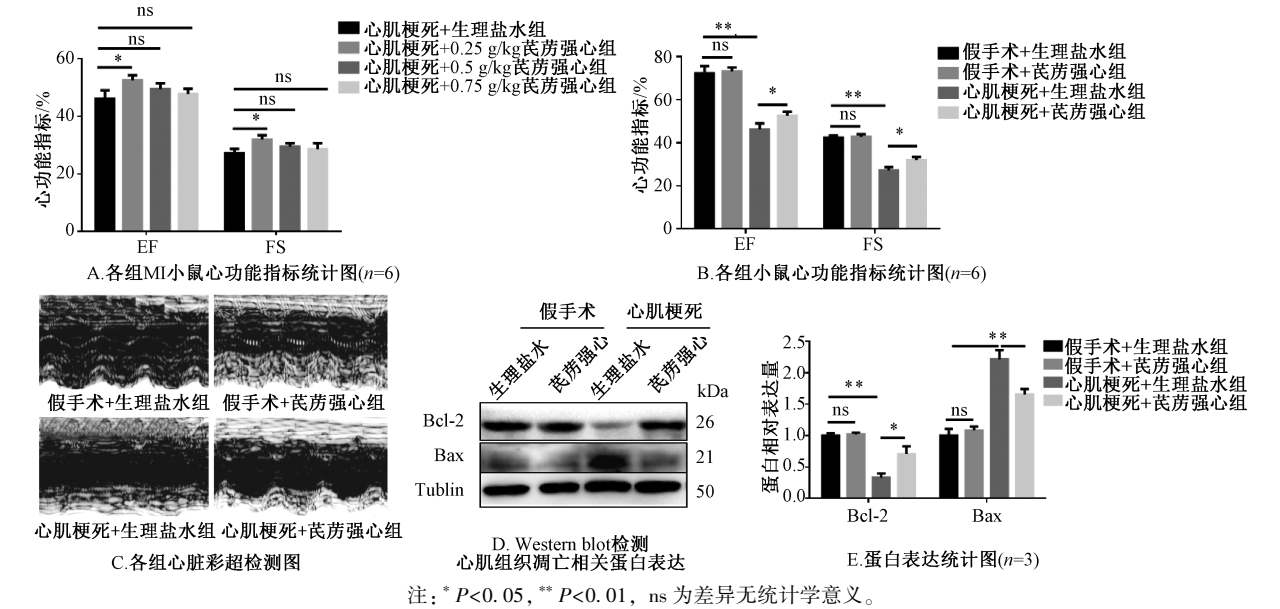
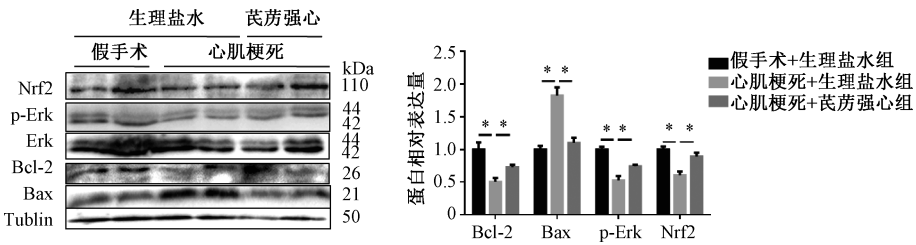


图1 芪苈强心对心梗小鼠心功能的影响

Fig. 1 Effects of QLQX on cardiac function of MI mice

3.2 芪苈强心对心梗小鼠心肌组织细胞凋亡及p-Erk/Nrf2表达的影响 与假手术+生理盐水组相比,心肌梗死+生理盐水组Bcl-2表达下降(*P*<0.05),Bax表达上升(*P*<0.05),与心肌梗死+生理盐水组相比,心肌梗死+芪苈强心组Bcl-2表达上调(*P*<0.05),Bax表达下调(*P*<0.05)。

p-Erk/Nrf2 信号通路结果显示,与假手术+生理盐水组相比,心肌梗死+生理盐水组p-Erk、Nrf2表达下降(*P*<0.05),与心肌梗死+生理盐水组相比,心肌梗死+芪苈强心组p-Erk、Nrf2表达上调(*P*<0.05)见图2。



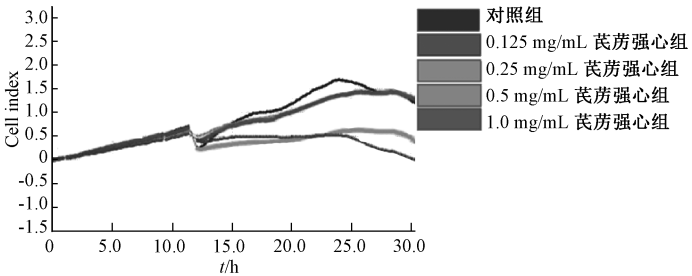
注：* $P < 0.05$ 。

图 2 Western blot 检测各组小鼠心肌组织蛋白表达 (n=3)

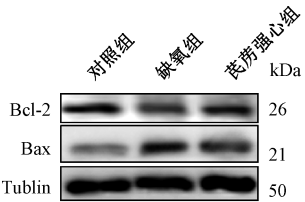
Fig. 2 Detection of protein expression in mouse myocardium by Western blot (n=3)

3.3 芪苈强心对缺氧 H9c2 细胞凋亡及 p-Erk/Nrf2 表达的影响 RTCA 结果结果显示, 0.25、0.125 mg/mL 芪苈强心对 H9c2 细胞生长无抑制作用, 细胞毒性较小; 而随着药物浓度的增加, 芪苈强心 (0.5、1.0 mg/mL) 对 H9c2 细胞增殖的抑制作用增加。因此后续实验选择 0.25 mg/mL 芪苈强心, 作用 H9c2 细胞 24 h (图 3 A)。Western blot 结果显示, 与对照组相比, 缺氧组 Bcl-2 表达下降

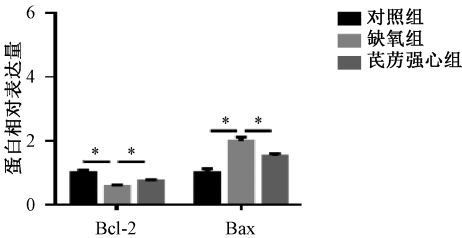
($P < 0.05$), Bax 表达上升 ($P < 0.05$); 与缺氧组相比, 芪苈强心组 Bax 表达下调 ($P < 0.05$), Bcl-2 表达上调 ($P < 0.05$), 见图 3B~C。芪苈强心预给药与 Erk 抑制剂 PD98059 同时处理, 与芪苈强心组相比, Erk 抑制剂组 p-Erk 表达下降 ($P < 0.05$), 同时 Nrf2, Bcl-2 表达下降 ($P < 0.05$), Bax 表达增高 ($P < 0.05$), 见图 3D~E。



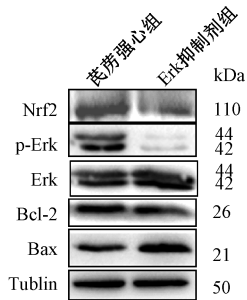
A. RTCA法检测芪苈强心对H9C2细胞的增殖与毒性



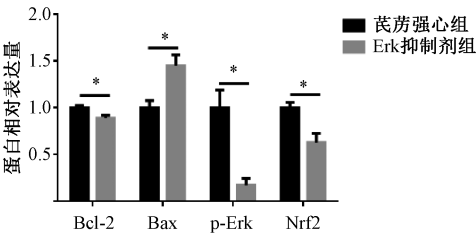
B. Western blot检测蛋白表达



C. 蛋白表达统计图(n=3)



D. Western blot检测蛋白表达



E. 蛋白表达统计图(n=3)

注：* $P < 0.05$ 。

图 3 Western blot 检测各组 H9c2 蛋白表达 (n=3)

Fig. 3 Detection of H9c2 protein expression in each group by Western blot (n=3)

4 讨论

心肌梗死是一种严重的心血管疾病，严重危害人类健康^[11]。氧化应激是各种有害因素导致活性氧（ROS）产生过多，超过机体的抗氧化能力，引起组织细胞损伤。有研究证实氧化应激反应与心梗的严重程度相关^[12]。心肌梗死后，氧化应激增强，导致心肌细胞凋亡、钙超载等一系列病理生理改变^[13]。而心肌细胞凋亡可使心室重构，严重影响心功能。因此，抑制氧化应激损伤，减轻心肌细胞凋亡，有利于心梗的治疗。

芪苈强心是由黄芪、人参、附子、丹参、葶苈子、泽泻、玉竹、桂枝、红花、香加皮、陈皮 11 种中药提取成分组成的传统中药，具有益气温阳、活血通络、利水消肿的功效。方中君药黄芪、附子，益气温阳；臣药丹参活血通络，人参补脾益肺、大补元气，葶苈子泻肺平喘、利水消肿；佐药红花活血化瘀，陈皮理气化痰，泽泻和香加皮强心、利水消肿，玉竹可养心阴；使药桂枝温阳化气。目前对该药在心力衰竭作用机制方面研究较多，有研究发现芪苈强心可抑制氧化应激、抑制细胞凋亡、减轻心室重构^[14]。也有研究发现芪苈强心对心梗大鼠有心肌保护作用，但是研究较少，具体机制并不清楚。本研究通过结扎左冠状动脉前降支建立小鼠心肌梗死模型，发现心梗小鼠心脏组织抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达下降，促凋亡蛋白 Bax 表达增高，心肌细胞凋亡增加，而芪苈强心灌胃处理可以上调 Bcl-2 的表达，下调 Bax 的表达，心肌细胞凋亡减轻，说明芪苈强心可抑制心梗引起的细胞凋亡。

接下来研究芪苈强心减轻心梗引起的细胞凋亡的具体分子机制。Nrf2 是抗氧化应激的核心因子，有抗氧化应激以及维持氧化还原平衡作用，控制一系列抗氧化蛋白和解毒酶的表达^[15]。多项研究证明 Nrf2 对心肌损伤产生保护作用^[16]。在心血管病的动物模型，如心肌缺血再灌注损伤^[10]、主动脉弓缩窄术（TAC）引发的心力衰竭^[17]中，也得到证实。本实验发现小鼠心梗后心肌细胞凋亡增加，Nrf2 表达下降，考虑小鼠心梗后氧化应激增强，而抗氧化应激核心因子 Nrf2 表达下降，小鼠抗氧化应激能力下降，不能对抗心梗引起的心肌损伤，故心肌细胞凋亡增加。而当给予芪苈强心灌胃处理后，Nrf2 表达上升，心肌细胞凋亡减少，说明芪苈强心可上调心梗引起的 Nrf2 的下降，使小鼠抗氧化应激能力增强，心肌损伤减轻。无论是在心肌

梗死+生理盐水组还是心肌梗死+芪苈强心组，Nrf2 与 p-Erk 蛋白表达变化趋势一致。

Erk 是内质网膜上一种跨膜信号蛋白，氧化应激时，Erk 会自身聚合磷酸化活化，p-Erk 是 Erk 的磷酸化形式，具有活性，p-Erk 调节下游分子发挥抗氧化应激作用。Nrf2 是 p-Erk 的底物。研究发现^[18]活化的 p-Erk 会促进 Nrf2 与胞浆蛋白 Keap1 解离，游离的 Nrf2 转位入核活化，与核内抗氧化反应原件 ARE 结合启动下游抗氧化蛋白的表达从而调控氧化应激。研究发现 Erk 信号通路在心脏中有保护作用^[19]。芪苈强心可能通过激活 p-Erk 的表达，促进抗氧化应激核心因子 Nrf2 入核活化，进而启动下游基因表达，从而缓解小鼠心梗后细胞凋亡。体外细胞实验进一步验证了这一猜测。

综上所述，芪苈强心通过激活 p-Erk/Nrf2 信号通路发挥抗氧化应激抑制小鼠心梗后细胞凋亡的作用。

参考文献：

[1] Heusch G, Libby P, Gersh B, *et al.* Cardiovascular remodelling in coronary artery disease and heart failure [J]. *The Lancet*, 2014, 383(9932): 1933-1943.

[2] Curley D, Lavin P B, Shah A M, *et al.* Molecular imaging of cardiac remodelling after myocardial infarction [J]. *Basic Res Cardiol*, 2018, 113(2): 10.

[3] Fuentes E, Moore-Carrasco R, de Andrade P A, *et al.* Role of platelet activation and oxidative stress in the evolution of myocardial infarction [J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2019, 24(6): 509-520.

[4] Jose C J, Vatner D E, Vatner S F. Myocardial apoptosis in heart disease: does the emperor have clothes? [J]. *Basic Res Cardiol*, 2016, 111(3): 31.

[5] Takemura G, Kanamori H, Okada H, *et al.* Anti-apoptosis in nonmyocytes and pro-autophagy in cardiomyocytes: two strategies against postinfarction heart failure through regulation of cell death/degeneration [J]. *Heart Fail Rev*, 2018, 23(5): 759-772.

[6] Lin S, Wu X, Tao L, *et al.* The metabolic effects of traditional chinese medication Qiliqiangxin on H9C2 cardiomyocytes [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 37(6): 2246-2256.

[7] 段晓宇, 朱 虹, 孙 珊, 等. 芪苈强心颗粒对心肾综合征大鼠肾组织细胞凋亡的影响 [J]. *中国病理生理杂志*, 2019, 35(3): 522-529.

[8] Wang J, Zhou J, Ding X, *et al.* Qiliqiangxin improves cardiac function and attenuates cardiac remodeling in rats with experimental myocardial infarction [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(6): 6596-6606.

[9] Cullinan S B, Zhang D, Hannink M, *et al.* Nrf2 is a direct PERK substrate and effector of PERK-dependent cell survival

[J]. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(20): 7198-7209.

[10] Chen W, Chen X, Wang Y, *et al.* Mechanism of emulsified isoflurane postconditioning-induced activation of the Nrf2-antioxidant response element signaling pathway during myocardial ischemia-reperfusion[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2019, 73(5): 265-271.

[11] Benjamin E J, Muntner P, Alonso A, *et al.* Heart disease and stroke statistics—2019 update: a report from the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2019, 139(10): e56-e66.

[12] Shahzad S, Hasan A, Faizy A F, *et al.* Elevated DNA damage, oxidative stress, and impaired response defense system inflicted in patients with myocardial infarction[J]. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2018, 24(5): 780-789.

[13] Hausenloy D J, Yellon D M. Myocardial ischemia-reperfusion injury: a neglected therapeutic target[J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(1): 92-100.

[14] Wang H, Zhang X, Yu P, *et al.* Traditional Chinese Medication Qiliqiangxin Protects against cardiac remodeling and dysfunction in spontaneously hypertensive rats[J]. *Int J Med Sci*, 2017, 14(5): 506-514.

[15] 王 宁, 马慧萍, 漆欣筑, 等. Nrf2-ARE 信号通路在机体氧化应激损伤防护中的研究进展 [J]. 解放军医药杂志, 2015, 27(12): 21-27.

[16] Li S, Wang W, Niu T, *et al.* Nrf2 deficiency exaggerates doxorubicin-induced cardiotoxicity and cardiac dysfunction[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2014, 2014: 748524.

[17] Wang W, Li S, Wang H, *et al.* Nrf2 enhances myocardial clearance of toxic ubiquitinated proteins [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2014, 72(14): 305-315.

[18] Cullinan S B, Diehl J A. PERK-dependent activation of Nrf2 contributes to redox homeostasis and cell survival following endoplasmic reticulum stress [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(19): 20108-20117.

[19] Sun M H, Chen X C, Han M, *et al.* Cardioprotective effects of constitutively active MEK1 against H₂O₂-induced apoptosis and autophagy in cardiomyocytes via the ERK1/2 signaling pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 512(1): 125-130.

玉屏风颗粒对变应性鼻炎大鼠 Th17/Treg 平衡及相关细胞因子的影响

许江涛¹, 劳梓钊¹, 张丽娟², 廖小红³, 阎 雪³, 吴依娜¹, 李得堂^{3*}
(1. 广州中医药大学, 广东 广州 510405; 2. 广州中医药大学附属中山医院, 广东 中山 528400; 3. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405)

摘要: **目的** 研究玉屏风颗粒对变应性大鼠 Th17/Treg 免疫平衡的影响。**方法** 采用 OVA 制备 AR 大鼠模型, 大鼠随机分为正常组、模型组、氯雷他定组、玉屏风颗粒组 (12、6 g/kg)。各组干预后评估大鼠 AR 行为学总分, HE 和 AB-PAS 染色观察鼻黏膜组织病变情况, ELISA 检测 AR 大鼠血清中的 IL-17、TGF-β1 水平, RT-PCR 检测鼻黏膜组织中 *RORγt* mRNA、*Foxp3* mRNA 的表达, Western blot 检测鼻黏膜组织中 RORγt、Foxp3 蛋白表达。**结果** 与模型组比较, 玉屏风颗粒组 (12、6 g/kg) 大鼠挠鼻次数、打喷嚏次数等行为学总分降低 ($P<0.05$); 上皮细胞结构完整、少量炎症细胞浸润、杯状细胞化生明显减少; 血清中的 IL-17 水平降低、TGF-β1 水平升高 ($P<0.05$); 鼻黏膜 *RORγt* mRNA 表达降低、*Foxp3* mRNA 表达升高 ($P<0.05$); 鼻黏膜组织 RORγt/Foxp3 蛋白表达比例升高 ($P<0.05$)。**结论** 玉屏风颗粒能明显改善变应性大鼠鼻黏膜炎症症状, 其作用机制可能与调节 Th17/Treg 平衡及相关细胞因子有关。

关键词: 玉屏风颗粒; 变应性鼻炎; 叉头状转录因子 p3; 维甲酸相关孤儿受体 γt

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2020)09-2311-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2020.09.012

收稿日期: 2020-01-13

基金项目: 广东省自然科学基金项目 (2017A030313626); 广东省教育厅特色创新项目 (2018KTSCX036); 中山市科技计划项目 (2015B1052); 南沙区科技计划项目 (2017CX005); 广州中医药大学第一附属医院创新强院工程项目 (2019QN22, 2017ZWB10)

作者简介: 许江涛 (1990—), 男, 硕士生, 研究方向为中西医结合基础。Tel: 18320160280, E-mail: 245906785@qq.com

*** 通信作者:** 李得堂 (1983—), 男, 硕士, 副主任中药师, 研究方向为中药药理及制剂的基础研究。Tel: 15918727697, E-mail: lidetang2002@163.com