

心安颗粒对病毒性心肌炎小鼠 IL-6, TNF- α 及病毒复制的影响

陶莉莉, 杨思进*, 白雪, 杨燕妮

(西南医科大学附属中医医院, 四川 泸州 646000)

[摘要] **目的:** 研究心安颗粒对病毒性心肌炎(viral myocarditis, VMC)小鼠的柯萨奇 B3 病毒(CVB3) mRNA, 白细胞介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平的影响。**方法:** 将 60 只健康雄性 BALB/c 小鼠随机分为 6 组, 空白组、模型组、利巴韦林组(阳性药物, $0.02 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)和心安颗粒高、中、低剂量组($12, 6, 3 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$), 其中空白组腹腔接种 0.15 mL 生理盐水, 其余 5 组均腹腔接种 $1 \times 10^{-8} \text{ TCID}_{50}\cdot\text{mL}^{-1}$ CVB3 Nancy 标准病毒液 0.15 mL , 进行模型制备。造模 2 h 后对各给药组小鼠灌胃(*ig*)相应药物, 空白组和模型组小鼠 *ig* 生理盐水, 连续 7 d。7 d 后小鼠进行实验, 观察小鼠心肌组织病理变化, 并进行评分; 实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测心肌组织中 CVB3 mRNA 水平和蛋白质免疫印迹法(Western blot)检测 TNF- α , IL-6 蛋白表达。**结果:** 给药 7 d 后, 与空白组比较, 模型组心肌细胞排列紊乱, 出现间质水肿, 可见大量炎症细胞浸润, 发生明显病变, 心肌病变评分和心肌组织中 CVB3 mRNA 表达水平和 IL-6, TNF- α 蛋白水平明显升高($P < 0.05$); 与模型组比较, 各给药组小鼠心肌组织病变得改善, 病理评分和心肌组织中 CVB3 mRNA 和 TNF- α , IL-6 蛋白水平明显降低($P < 0.05$)。**结论:** 心安颗粒可明显下调病毒性心肌炎模型小鼠心肌组织中 CVB3 mRNA 和 TNF- α , IL-6 蛋白水平的表达, 推测是其防治病毒性心肌炎的作用机制之一。

[关键词] 病毒性心肌炎; 心安颗粒; 柯萨奇病毒 B3 (CVB3); 肿瘤坏死因子- α ; 白细胞介素-6

[中图分类号] R542.2; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)18-0135-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017180135

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170612.1051.038.html>

[网络出版时间] 2017-06-12 10:51

Effect of Xin'an Granule on IL-6, TNF- α and Viral Replication on Rats with Viral Myocarditis

TAO Li-li, YANG Si-jin*, BAI Xue, YANG Yan-ni

(Traditional Chinese Medicine Hospital Affiliated to Southwest Medical University, Luzhou 646000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of Xin'an granules on expressions of Coxsackievirus B virus 3 (CVB3) mRNA, interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in rats with viral myocarditis (VMC). **Method:** Totally 60 healthy male BALB/c rats were randomly divided into normal group, model group, ribavirin group (positive drug, $0.02 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) and high, medium and low-dose Xin'an granules ($12, 6, 3 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) groups, with 10 rats in each group. For the normal group, 0.15 mL of normal saline was intraperitoneally injected into rats, while for the other 5 groups, CVB3 Nancy liquid 0.15 mL ($1 \times 10^{-8} \text{ TCID}_{50}\cdot\text{mL}^{-1}$) was injected. The rats in drug administration groups were given corresponding drugs, *ig*, while those in the normal group and the model group were given normal saline, *ig*, for 7 consecutive days. All of the groups were treated continuously for 7 days. The pathological changes in cardiac muscle tissues were observed and scored, CVB3 mRNA expression was detected by Real-time PCR, and TNF- α and IL-6 protein expression were detected by

[收稿日期] 20170418(028)

[基金项目] 四川省教育厅自然科学重点项目(10ZA037)

[第一作者] 陶莉莉, 硕士, 住院医师, 从事中西医结合防治心脑血管疾病的研究, Tel: 15892919595, E-mail: tao_lili@outlook.com

[通讯作者] * 杨思进, 教授, 博士生导师, 主任中医师, 从事中西医结合防治心脑血管疾病的研究, Tel: 13608286028, E-mail: ysjimn@sina.com

Western blot in cardiac muscle tissues. **Result:** After 7 days of drug administration, compared to the normal group, in model control group, myocardial cells were disarranged, and showed interstitial edema, a large number of inflammatory cells infiltrating and significant pathological changes, and CVB3 mRNA expression and TNF- α and IL-6 protein expressions in cardiac muscle tissues were significantly increased ($P < 0.05$). Compared to the model group, the rats in drug administration groups showed alleviation in cardiac muscle tissue lesions and obviously lower pathological score and CVB3 mRNA expression and TNF- α and IL-6 protein expressions in cardiac muscle tissues ($P < 0.05$). **Conclusion:** Xin'an granules can markedly down-regulate CVB3 mRNA expression and TNF- α and IL-6 protein expressions in cardiac muscle tissues of rats with viral myocarditis, which is inferred as a prevention and treatment mechanism of viral myocarditis.

[**Key words**] viral myocarditis; Xin'an granule; Coxsackievirus B virus 3; tumor necrosis factor- α ; interleukin-6

柯萨奇 B3 病毒 (Coxsackievirus B virus 3, CVB3) 是一种肠道病毒, 是引起 (viral myocarditis, VMC) 常见病原体。VMC 可表现为急性暴发性疾病, 也可进展为慢性疾病, 是以侵犯心脏组织为主的一组临床综合征, 临床表现差异很大, 主要表现为心悸、气短、心前区不适和乏力, 因心肌间质纤维化形成最终发展为扩张型心肌病, 且各年龄段可发病。近年来, 发病率越来越高, 又以儿童、青壮年发病率较高, 但目前尚无有效而系统的治疗方法, 逐步引起了社会的重视^[1-2]。虽然目前 VMC 的发病机制尚不明确, 但近年来细胞因子被认为在 VMC 发病中占有主导位^[3]。白细胞介素-6 (IL-6) 和其他细胞因子被认为共同参与和引起了急性期的炎症反应, 如肿瘤坏死因子- α (TNF- α), IL-1 和干扰素 (IFN)- γ , 同时在病毒感染的急性阶段可检测到各种细胞因子和趋化因子的表达, 如 IL-1, IL-2, IL-6, TNF- α , 趋化因子配体-10 (CXCL-10) 等^[3]。TNF- α 和 IL-8, IL-6 等一起推动 VMC 的发病和心肌病理发展过程, 与其他细胞因子互相作用、互相协调。

心安颗粒主要由黄芪、苦参、麦冬、赤芍 4 味中药组成的中药复方, 活以清热解毒、活血化瘀、滋阴降火, 是导师杨思进教授在传统中医理论——基于“玄府理论”治疗 VMC 的基础上总结多年的临床经验研发的。通过课题组前期的动物实验和临床观察, 发现心安颗粒通过抗病毒、抗炎、扩张冠脉, 改善心肌供血, 提高心肌耐缺氧能力, 抑制氧自由基产生, 起到对抗病毒感染和保护心肌的作用^[4]。本实验旨在通过制备病毒性心肌炎小鼠模型观察小鼠一般情况以及心安颗粒对 CVB3 mRNA, TNF- α 和 IL-6 的调节作用, 进而探讨心安颗粒抗病毒作用以及对心肌的保护作用, 从而为临床防治 VMC 提供一定的实验与理论依据。

1 材料

1.1 病毒 CVB3 (Nancy 株) 由第三军医大学附属医院中心实验室惠赠, 病毒液组织培养半数感染量为 1×10^{-8} TCID₅₀ · mL⁻¹, HeLa 细胞中繁殖和扩增, 分装后于 -20 °C 保存。

1.2 动物 60 只 4 周龄纯种近系 Balb/c 雄性小鼠, 体重 16 ~ 20 g, 饲养在清洁级环境中, 购于重庆腾新生物技术有限公司, 合格证号 SCXK (军) 2012-0011。饲养于 (23 ± 3) °C, 相对湿度 45% ~ 65%, 12 h 明暗交替的环境中, 单独饲养适应 48 h 后进入实验。动物实验符合西南医科大学伦理委员会标准 (编号 DWLL20150708103)。

1.3 药物与试剂 心安颗粒 (苦参, 黄芪, 麦冬, 赤芍, 10 g/袋, 西南医科大学附属中医医院制剂室提供, 批号 1610083), 心安颗粒 10 g 溶于水 100 mL, 配成 0.1 g · mL⁻¹ 溶液; 利巴韦林片 (100 mg × 24 片, 江西汇仁药业有限公司, 国药准字 H20033538) 利巴韦林片 10 mg 碾碎溶于水 100 mL, 配成 0.000 1 g · mL⁻¹; 山羊抗兔免疫球蛋白 (Ig) G (H + L), 山羊抗小鼠 IgG (H + L), GAPDH 鼠单抗 (天德悦公司, 批号分别为 TDY516, TDY568, TDY041); RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (美国 Thermo Scientific 公司, 货号 K1621), Anti-IL-6, Anti-TNF- α (美国 Abcam 公司, 货号 ab208113, ab9739); 其他试剂为国产分析纯。

1.4 仪器 Realplex2 型实时荧光定量 PCR 仪 (德国 Eppendorf 公司), Turbo 全能型蛋白转印系统试剂 (美国 Bio-Rad 公司), 80i 型正置荧光显微 (日本 Nikon 公司)。

2 方法

2.1 动物模型制备^[5]、分组及给药 将 60 只 Bab/c 小鼠随机分为 6 组, 空白组, 模型组, 利巴韦林组

($0.02 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), 心安颗粒高、中、低剂量组 ($12, 6, 3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)。除空白组于腹腔注射生理盐水 0.15 mL , 其余各组于腹腔注射 $1 \times 10^{-8} \text{ TCID}_{50} \cdot \text{mL}^{-1}$ CVB3 病毒液 0.15 mL , 建立病毒性心肌炎小鼠模型。接种病毒 2 h 后开始给药, 利巴韦林组灌胃 (*ig*) 药物溶液, 心安颗粒组 *ig* 药物溶液, 空白组、模型组 *ig* 等体积的生理盐水, 每天 1 次, 连续给药 7 d。

2.2 检测指标

2.2.1 小鼠一般情况 每天观察小鼠活动状态、饮食情况、精神状况及皮毛脱落状态等, 同时记录各组小鼠每天死亡数。

2.2.2 标本采集 在接种病毒后第 8 天, 称重后断颈处死小鼠, 无菌摘取心脏, 用滤纸吸干表面血液后称重, 并将心脏组织分为 3 部分, 分别用于组织病理学观察 (10% 多聚甲醛液固定), CVB3 mRNA (液氮冻存) 和蛋白检测 ($-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻存)。

2.2.3 苏木素-伊红 (HE) 染色观察心肌组织形态学变化 小鼠心脏组织标本切成 5 mm 厚切片, 10% 甲醛固定, 脱水, 石蜡包埋, HE 染色, 在光镜下观察心肌组织的病理变化, 随机取 5 个高倍视野 ($\times 200$), 计算每个视野中炎性细胞浸润和心肌坏死区域面积与整个视野面积的比值, 计算心肌病变评分: 0 分为无病变, 1 分为病变面积 $< 25\%$; 2 分为病变面积 $25\% \sim 50\%$; 3 分为病变面积 $50\% \sim 75\%$; 4 分为病变面积 $> 75\%$ 。

2.2.4 实时荧光定量聚合酶链式反应 (Real-time PCR) 法对心肌组织中 CVB3 mRNA 水平的检测 采用 trizol 法提取心肌总 RNA, 用 1% 琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测所得总 RNA 的纯度和浓度, 用第一链 cDNA 合成试剂盒合成 cDNA。逆转录产物用去离子水稀释 5 倍, 引物序列见表 1。CVB3 mRNA, GAPDH 的引物序列由生工生物工程 (上海) 股份有限公司设计、合成, Real-time PCR 反应体系如下: SYBR green PCR mix $10 \mu\text{L}$, 上下游引物各 $0.5 \mu\text{L}$, 稀释 cDNA $9 \mu\text{L}$, 共计 $20 \mu\text{L}$ 。反应条件: $95 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 10 min 预变性, 40 个循环 (变性 $95 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 15 s, $55 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 15 s, $72 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 30 s)。每个样本重复测量 3 次, 用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法分析目的基因相对表达量。

2.2.5 蛋白质免疫印迹 (Western blot) 法对心肌组织中 IL-6, TNF- α 蛋白表达的检测 心肌组织蛋白提取, 称取小鼠心肌组织 0.1 g , 加入 RAPI 裂解液 1 mL 冰浴充分研磨后, 置冰上继续裂解 30 min, $12\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 离心 5 min 去沉淀, 蛋白提取液采用考马斯亮蓝法进行蛋白浓度测定, 然后采用

表 1 引物基因序列

Table 1 Primer sequences

基因	引物序列	扩增长度/bp
CVB3	上游 5'-CCAGTAMCAGATAAAGTGGATTCT-3'	102
	下游 5'-GAARGGTATRGACATGCGTG-3'	
GAPDH	上游 5'-GGTGAAGTCCGGTGTGAACG-3'	233
	下游 5'-CTCGTCTCTGGAAGATGGTG-3'	

SDS 上样缓冲液煮沸裂解, 取蛋白 $60 \mu\text{g}$ 进行 SDS-PAGE 凝胶电泳, 转膜, 采用 5% 脱脂牛奶常温封闭 1 h, 一抗 (稀释比例 1:1 000) $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, TBST 充分洗涤后, 辣根过氧化物酶 (HRP) 偶联二抗 (稀释比例 1:3 000) 常温孵育 1 h, TBST 充分洗涤后, ECL 加膜, 显影, 定影, 扫描。采用化学发光法进行信号显示, 发光信号采用凝胶成像仪进行检测, 结果以目标蛋白和内参的相对灰度值表示。

2.3 统计学处理 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析。总体数据用 One-Way ANOVA 作统计分析, 用 LSD 检验作各组间均数两两比较, 方差不齐用非参数检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组小鼠一般情况、死亡率及心肌病变评分 空白组小鼠精神状态、毛发、饮食、睡眠、活动正常, 模型组小鼠在接种 CVB3 第 2 天开始出现少动、脱毛、减少禁食、体重减轻、易激怒、互相攻击等病毒感染症状, 不同剂量的心安颗粒组上述症状明显减轻 ($P < 0.05$)。各组小鼠死亡情况, 与模型组相比, 不同剂量的心安颗粒组降低了 VMC 小鼠的死亡率 ($P < 0.05$); 不同剂量的心安颗粒心肌病变评分和模型组比较差异显著 ($P < 0.05$), 与利巴韦林比较差异不显著; 各个用药组小鼠心脏组织病理积分明显低于模型对照组 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 心安颗粒对病毒性心肌炎小鼠死亡率、心脏指数和病理积分的影响

Table 2 Influence of Xin'an granule to rat death rate, CI, and heart pathological integral of viral myocarditis

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	<i>n</i>	死亡率/%	评分 ($\bar{x} \pm s$)/分
空白	-	10	0	0
模型	-	7	30 ¹⁾	2.857 \pm 0.690 ¹⁾
利巴韦林	0.02	9	10 ²⁾	1.333 \pm 0.500 ²⁾
心安颗粒	12	9	10 ²⁾	1.444 \pm 0.527 ²⁾
	6	8	20 ²⁾	1.750 \pm 0.463 ²⁾
	3	8	20 ²⁾	1.875 \pm 0.641 ²⁾

注: 与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$; 与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ (表 3, 4 同)。

3.2 对各组小鼠心肌组织的病理变化 空白组心肌组织未见病理变化,模型组心肌组织心肌细胞排列紊乱,出现大量炎症细胞浸润、心肌细胞出现明显出血水肿,伴有多灶性坏死以及部分心肌横纹肿胀模糊及纤维化,利巴韦林组和心安颗粒组病理改变以点状炎症和坏死灶为主,病变程度相对较轻。见图 1。

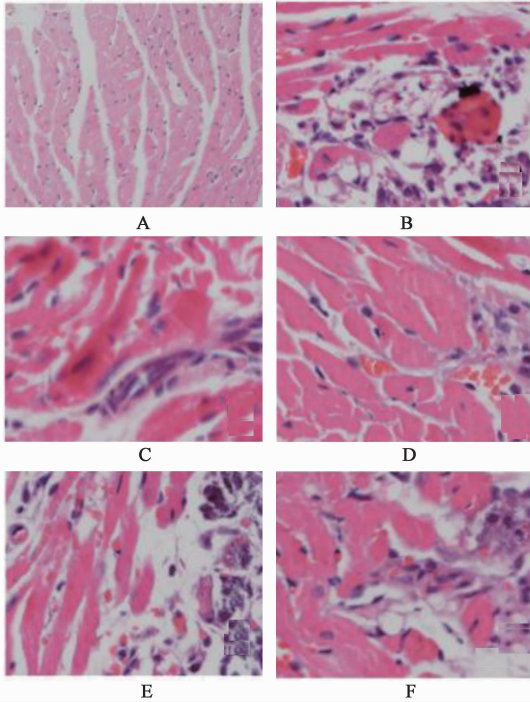


图 1 心安颗粒对各组小鼠心肌的影响 (HE, $\times 200$)
A. 空白组; B. 模型组; C. 利巴韦林组; D ~ F. 心安颗粒高、中、低剂量组 (12, 6, 3 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) (图 2 同)

Fig. 1 Effect of Xin'an granules on pathological changes of cardiac muscle tissue in each group rats (HE, $\times 200$)

3.3 对 VMC 小鼠的心肌组织中 CVB3 mRNA 表达的影响 与空白组比较,模型组心肌组织的 CVB3 mRNA 表达水平显著上调 ($P < 0.05$); 与模型组比较,利巴韦林、心安颗粒高、中、低组的 CVB3 mRNA 表达水平显著下调 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 心安颗粒对 CVB3 mRNA 的表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Effect of Xin'an granules on mRNA expression of CVB3 in viral myocarditis rats ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	CVB3 mRNA
空白	-	1.001 \pm 0.128
模型	-	6.972 \pm 0.861 ¹⁾
利巴韦林	0.02	2.130 \pm 0.198 ²⁾
心安颗粒	12	2.920 \pm 0.165 ²⁾
	6	4.318 \pm 0.250 ²⁾
	3	5.547 \pm 0.570 ²⁾

3.4 对 VMC 小鼠的心肌组织中 IL-6, TNF- α 蛋白表达的影响 与空白组比较,模型组心肌组织的 IL-6, TNF- α 蛋白表达水平显著上调 ($P < 0.05$), 与模型组比较,利巴韦林、心安颗粒高、中、低组的 IL-6, TNF- α 蛋白表达水平明显下 ($P < 0.05$)。见表 4, 图 2。

表 4 心安颗粒对 VMC 小鼠 IL-6, TNF- α 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Effect of Xin'an granules protein expression of IL-6, TNF- α in viral myocarditis rats ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	IL-6/GAPDH	TNF- α /GAPDH
空白	-	0.787 \pm 0.016	0.755 \pm 0.034
模型	-	1.473 \pm 0.245 ¹⁾	1.465 \pm 0.052 ¹⁾
利巴韦林	0.02	0.677 \pm 0.103 ²⁾	0.729 \pm 0.101 ²⁾
心安颗粒	12	0.776 \pm 0.083 ²⁾	0.833 \pm 0.090 ²⁾
	6	1.112 \pm 0.940 ²⁾	1.015 \pm 0.050 ²⁾
	3	1.183 \pm 0.163 ²⁾	1.181 \pm 0.178 ²⁾

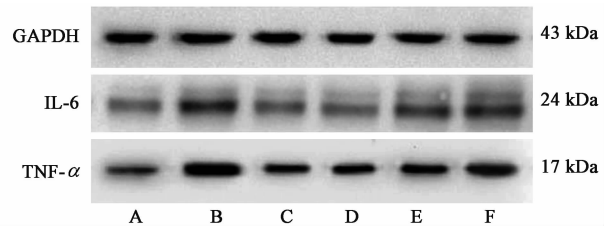


图 2 心安颗粒对 VMC 小鼠 IL-6, TNF- α 蛋白表达的影响

Fig. 2 Effect of Xin'an granules protein expression of IL-6, TNF- α in viral myocarditis rats

4 讨论

病毒性心肌炎目前尚无有效而系统的治疗方法,免疫治疗在临床试验中的疗效甚微,至今没有一种行之有效的治疗方案。所以,国内外都在积极寻求其他治疗途径。本课题研究中不仅应用了常规检测方法,观察了心安颗粒对小鼠行为及临床症状的影响,还综合应用了分子生物学技术,从分子水平上检测了心安颗粒的药理机制,为心安颗粒的应用提供了分子理论依据。本课题通过 Real-time PCR 技术检测心肌组织 CVB3 mRNA 的表达水平,证实了高剂量的心安颗粒可显著降低 CVB3 mRNA 和 TNF- α , IL-6 蛋白表达水平,同时也显示了心安颗粒的免疫调节作用,而且心安颗粒的作用与剂量相关,表明心安颗粒对该病毒的复制具有较强的抑制作用。

心安颗粒是传统中医学和现代中药药理相结合的研究成果,由黄芪、苦参、麦冬、赤芍等组成的

主治病毒性心肌炎、保护心肌、改善心功能的纯中药复方制剂^[4]。黄芪是中药中常用的补气药,归脾、肺两经,用于临床治疗病毒性心肌炎时,效果显著,分子药理学研究也证实黄芪提取液具有多种抵抗柯萨奇病毒的作用。陈碧涛等^[6]运用氧化苦参碱研究其对病毒性心肌炎小鼠心肌细胞凋亡的影响,发现苦参碱有改善病毒性心肌炎症状,减轻由于心肌细胞凋亡导致的心功能损伤;麦冬益气养阴,彭磊等^[7]在研究病毒性心肌炎时,发现麦冬可以滋阴清热,心电图和血液流均有改变,对心率的恢复和防止心肌细胞缺血性损伤,起到一定的保护作用。

在病毒性心肌炎的发病过程中,许多炎症细胞因子参与了病毒性心肌炎的发病,其中以 TNF- α 、IL-6 在病毒性心肌炎中升高明显。IL-6 是一种糖蛋白,其作为具有多种生物学效应的一种细胞因子,对 B 细胞,胸腺细胞, T 细胞,巨噬细胞及 NK 细胞等多种细胞具有分化刺激作用。正常情况下 IL-6 血清中的含量微乎其微,在病毒的急性期特别是毒血症期,因为病毒的刺激和诱导,引起免疫活性细胞特别是单核巨噬细胞的活跃,产生大量 IL-6,引起血清中 IL-6 含量明显升高。IL-6 能诱导多种免疫细胞分化,如 B 细胞, T 细胞,激活机体的抗体产生而参与机体的免疫应答,过度的免疫应答可促发炎症反应^[8-10]。IL-6 作为机体的保护机制之一,对机体的病毒清除起到了一定的作用,在早期的 IL-6 具有一定的抗病毒活性,尽管 IL-6 的水平升高在一定程度上对机体清除病毒有积极作用,但是在另一方面, T 细胞介导的细胞毒作用也可能是造成心肌细胞损伤的主要原因,尤其是持续和过度的 IL-6 升高会诱发严重的心肌细胞损害。多项研究也显示在病毒所致的心肌炎动物血清中发现 IL-6 明显升高,并与心肌炎的发病具有相关性^[11-13]。TNF- α 主要由单核巨噬细胞产生,是重要的炎症与免疫调节因子,可引起心肌细胞免疫病理损伤和能力代谢失衡,且炎症细胞因子之间呈级联放大反应,导致心肌细胞的持续性坏死和炎症细胞的浸润,呈恶性循环趋势从而加重心肌炎性反应^[14-16]。多项研究也证实 TNF- α 升高与心肌炎及心力衰竭的发生有关,降低炎症因子 TNF- α 的表达,可发挥对病毒性心肌炎组织的保护作用尤其是在 CVB3 心肌炎的发生过程中^[17-18]。

在本研究中,发现给予治疗后的心安颗粒组在行为表现方面明显改善,心肌病变评分以及死亡率等也有明显减少,这显示出心安颗粒能减少病毒性心肌炎所导致的心肌损害,保护心肌组织,提高

存活率;心安颗粒组小鼠心肌组织中 CVB3 mRNA 表达水平明显低于模型组,说明心安颗粒能明显抑制病毒复制,发挥抗病毒作用;TNF- α 和 IL-6 在多项研究中被证实是体内重要的炎症调节因子,加重病情的发展,抑制 TNF- α 和 IL-6,可明显改善心肌组织的损伤。笔者对各组小鼠心肌组织中 TNF- α 和 IL-6 蛋白水平进行对比发现,心安颗粒组小鼠的心肌组织 TNF- α 和 IL-6 表达水平均明显低于模型组,说明心安颗粒可以通过调节 TNF- α 和 IL-6 减轻病毒性心肌炎细胞损害,改善心功能。

但本实验由于仅仅使用了小鼠模型,需要进一步在临床观察并统计心安颗粒对病毒性心肌炎患者的疗效,有助于更深入地研究心安颗粒的作用机制。除此之外,还需进一步采用分子生物学手段检测 TNF- α 和 IL-6 mRNA 表达水平。这将进一步支持以上论证。

[参考文献]

- [1] 赵述强,李翔宇. 病毒性心肌炎中西医防治的研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2016, 14(18):2115-2118.
- [2] CHENG Z, LI S G, YUE C L. Autonomic nervous system in viral myocarditis; pathophysiology and therapy [J]. Curr Pharml Des, 2016, 22(4):485-498.
- [3] Fontes J A, Barin J G, Talor M V, et al. Complete Freund's adjuvant induces experimental autoimmune myocarditis by enhancing IL-6 production during initiation of the immune response[J]. Imm Inflamm Dis, 2017, 5(2):163-176.
- [4] 白雪,宋志宙,杨思进,等. 心安颗粒对急性心肌缺血大鼠心电图影响的研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(10):2707-2709.
- [5] 熊飞,万方方,钱乾,等. 小鼠柯萨奇病毒性心肌炎模型的优化[J]. 现代免疫学, 2014, 34(3):183-189.
- [6] 陈碧涛,朱荣金,杨红宇,等. 氧化苦参碱对病毒性心肌炎小鼠心肌细胞凋亡及相关因子的影响[J]. 中国现代应用药学, 2016, 33(2):162-165.
- [7] 彭磊,杨春静,崔维. 中西医结合治疗病毒性心肌炎临床研究[J]. 中医学报, 2016, 31(2):275-278.
- [8] 文丹宁,胡继川. 甘草酸二铵注射液治疗小儿重症暴发性病毒性心肌炎的疗效及对炎症因子、CK-MB 和肌钙蛋白的影响[J]. 中国临床研究, 2017, 30(2):162-164.
- [9] 郑俊晨,李林娟,高波,等. 心欣舒胶囊联合环磷腺苷葡胺治疗病毒性心肌炎的临床研究[J]. 现代药物与临床, 2016, 31(9):1365-1368.
- [10] 廖均. 环磷腺苷联合维生素 C 治疗对病毒性心肌炎患儿心电图及血清指标的影响[J]. 海南医学院学

- 报,2016,22(6):592-595.
- [11] 张新民,陈鹏,叶盛,等. 蛋白酶体抑制剂减少病毒性心肌炎小鼠炎症因子 IL-6 和 TNF- α 的表达[J]. 中国临床药理学与治疗学,2017,22(4):406-411.
- [12] 梁文宝,陈简. 丹参注射液辅助治疗病毒性心肌炎的抗炎及抗氧化自由基的效应研究[J]. 海南医学院学报,2016,22(15):1630-1632,1636.
- [13] 路航,王烁瓔,王秋静. 人参三醇皂苷对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中草药,2016,47(2):275-280.
- [14] 罗进光,张嘉宁,王智彬,等. 参麦注射液与曲美他嗪和左卡尼汀联合治疗急性病毒性心肌炎的临床疗效及对血清 TNF- α 和 IL-6 水平的影响[J]. 中华医院感染学杂志,2017,27(3):576-579.
- [15] 王景. 曲美他嗪联合灯盏花素注射液治疗急性病毒性心肌炎疗效观察[J]. 现代中西医结合杂志,2017,26(8):879-881.
- [16] 胡小勤,邓家刚,杜正彩,等. 芒果苷联合葛根素对自发性高血压大鼠心脏炎症性损伤的协同保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(9):146-151.
- [17] 李忠,张培华. 小檗碱通过 Toll 样受体 4/核因子 κ B 信号通路对小鼠病毒性心肌炎发挥保护作用[J]. 中国动脉硬化杂志,2017,25(3):250-253.
- [18] 曹永,徐侠,张培影. 五参二连颗粒对病毒性心肌炎病人血清 IL-6、TNF- α 及 cTnI 水平的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2016,14(19):2213-2215.
- [责任编辑 邹晓翠]

《中国实验方剂学杂志》2016 年度优秀论文获奖名单

题目	作者	单位	刊期
苦参碱凝胶剂的制备及体外释药特性考察	徐和,戴领,沈成英,白金霞,申宝德,袁海龙	成都中医药大学药学院	201401
炎琥宁联合阿奇霉素治疗小儿支原体肺炎的疗效及安全性的 Meta 分析	罗钦宏,梁锦枝,黄艳琼,古子娟	广州中医药大学	201401
肝郁、脾虚和肝郁脾虚证模型大鼠下丘脑-垂体-甲状腺轴功能的变化及柴疏四君子汤的作用	赵荣华,谢鸣,李聪,张敬升,刘进娜,王帮众	北京中医药大学基础医学院	201402
中药联合抗风湿药治疗类风湿性关节炎活动期的临床观察	马进,陈岷,李获,陈璐,卢喆	四川省人民医院	201405
多枝雾水葛化学成分	刘旭阳,谢郁峰,张慧,刘天竹,刘畅,郭丽冰	广东药学院中药学院	201406
复方血栓通胶囊抗血栓作用的实验研究	聂勇胜,文思,刘静,黄萍,吴清和,操红缨	广州中医药大学	201408
女贞子化学成分与药理作用研究进展	刘亭亭,王萌	天津中医药大学	201414
柴蝎丹参汤对气滞血瘀型不稳定型心绞痛患者炎症细胞因子的影响	黄柳向,程丑夫,王敏	湖南中医药大学第一附属医院	201501
桃红四物汤对早期闭合性骨折祛瘀生新作用的初步探讨	季兆洁,韩岚,彭代银,陈卫东,李珊珊,周贞贞,朱光宇	安徽中医药大学药学院,等	201503
黄芪药材中黄芪甲苷 UPLC_ELSD 含量测定方法的优化	刘和平,彭招华,张润容,黄静,黄文漳,曹晖	丽珠医药集团国家中药现代化工程技术研究中心	201505

注:2016 年获奖论文产生自 2014—2015 年发表的较高被引论文(年总被引频次前 100 名),经责任编辑推荐,平衡不同栏目,同行编委评选,编委会年会通过并公布。按刊出时间排序。