

# 唐古特红景天降低大鼠低氧性肺动脉高压的作用及对 ET-1, eNOS mRNA 和蛋白表达的影响

芦殿荣<sup>1</sup>, 张树娜<sup>2</sup>, 靳国恩<sup>3</sup>, 白振忠<sup>3</sup>, 永胜<sup>3</sup>, 张得钧<sup>3</sup>, 王欣佩<sup>3</sup>,  
杨全余<sup>3</sup>, 嘎琴<sup>3</sup>, 杨应忠<sup>3</sup>, 马兰<sup>3</sup>, 王海洁<sup>3</sup>, 芦殿香<sup>2\*</sup>, 格日力<sup>3\*</sup>

(1. 中国中医科学院望京医院, 北京 100102; 2. 青海省红十字医院, 西宁 810000;  
3. 青海大学医学院高原医学研究中心, 西宁 810001)

**[摘要]** 目的: 研究唐古特红景天 95% 乙醇提取物对大鼠慢性低氧性肺动脉高压 (HPH) 的作用及其分子机制。方法: 雄性 Wistar 大鼠随机分为对照组、低氧组、低氧 + 生理盐水组、低氧 + 低剂量药物组 ( $1.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )、低氧 + 高剂量药物组 ( $2.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) 5 组, 每组 15 只。除对照组外, 其余各组动物均置于低压氧舱内 (模拟海拔 4 500 m 的高原环境), 每 24 h 开舱 0.5 h 进行灌药等处理, 连续 30 d。检测各组大鼠的肺血流动力学变化、右心室肥厚指数; 光镜观察直径 50 ~ 100  $\mu\text{m}$  的肺动脉管壁厚度占外径的百分比 (WT%); 采用实时荧光定量 PCR 方法, 检测各组动物肺组织内皮素-1 (ET-1) 和内皮细胞一氧化氮合酶 (eNOS) mRNA 的表达; 采用 ELISA 法检测各组动物血清 ET-1 和 eNOS 蛋白的含量。结果: 与低氧对照组和低氧生理盐水组相比, 高剂量唐古特红景天干预, 具有以下药理作用: ① 降低大鼠的平均肺动脉压 (mPAP), 右心室肥厚指数 (RV/LV + S), 血红蛋白含量 (Hb), 红细胞压积 (Hct) ( $P < 0.01$ ); ② 减轻大鼠肺动脉的肌化程度 ( $P < 0.05$ ); ③ 降低大鼠肺组织 ET-1 mRNA 表达, 上调大鼠肺组织内皮细胞 (eNOS) mRNA 表达 ( $P < 0.05$ ); ④ 降低大鼠血清 ET-1 蛋白的含量, 上调大鼠血清内皮细胞 eNOS 蛋白的含量 ( $P < 0.05$ )。结论: 唐古特红景天对于 HPH 的形成具有一定的防治作用, 其药理作用机制与上调 eNOS mRNA 和蛋白表达、抑制 ET-1 mRNA 和蛋白表达有关。

**[关键词]** 唐古特红景天; 低氧性肺动脉高压; 内皮素-1; 内皮细胞氮氧化物合酶

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)06-0274-06

## Effect of Hypoxic Pulmonary Hypertension of *Rhodiola algida* var. *tangutica* and Related Influence on Gene Expression and Protein Content of ET-1 and eNOS

LU Dian-rong<sup>1</sup>, ZHANG Shu-na<sup>2</sup>, JIN Guo-en<sup>3</sup>, BAI Zhen-zhong<sup>3</sup>,  
YONG Sheng<sup>3</sup>, ZHANG De-jun<sup>3</sup>, WANG Xin-pei<sup>3</sup>, YANG Quan-yu<sup>3</sup>,  
GA Qin<sup>3</sup>, YANG Ying-zhong<sup>3</sup>, MA Lan<sup>3</sup>, WANG Hai-jie<sup>3</sup>, LU Dian-xiang<sup>2\*</sup>, GE Ri-li<sup>3\*</sup>

(1. Wangjing Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100102, China;

2. Qinghai Red Cross Hospital, Xining 810000, China;

3. Research Center of High Altitude Medicine, Qinghai University Medical College, Xining 810001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the pharmacological role of 95% ethanol extract of *Rhodiola algida* var. *tangutica* on hypoxic pulmonary hypertension (HPH) and the related molecular mechanism. **Method:** Seventy-five male Sprague Dawley rats were randomly divided into five groups: control group, hypoxic control group (HC), hypoxic and physiological saline group (HS), hypoxic and low dose herb group ( $1.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{day}^{-1}$ ),

**[收稿日期]** 20121015(555)

**[基金项目]** 中国科学院“西部之光”人才培养计划项目[中国科学院科发人教字 2009(236)号]; 2010 年度教育部科学技术研究重点项目(210234)

**[第一作者]** 芦殿荣, 博士, 主治医师, 从事中医药临床及基础研究

**[通讯作者]** \* 格日力, 教授, 从事高原医学研究, Tel: 0971-6142063, E-mail: geriligao@hotmail.com

\* 芦殿香, 副教授, 从事药物防治高原病研究, Tel: 0971-6108394, E-mail: ludianxiang@qhu.edu.cn

hypoxic and high dose herb group ( $2.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ). The rats were kept in a hypobaric chamber which simulated the environment of a 4 500 m altitude except the control animals. Every 24 h, the hypobaric chamber was opened for 30 min to administrate the herb and the treatment was lasted for 30 days. After that, the hemodynamic changes were recorded and right ventricular hypertrophy index  $[\text{RV}/(\text{LV} + \text{S}), \%$ ] were calculated. The lung tissues were stained in HE and morphological parameter of vascular wall thickness (WT, %) was used to assess the remodeling of small pulmonary arteries. The levels of endothelin 1 (ET-1) and endothelial nitric oxide synthase (eNOS) mRNA were measured by real-time PCR analysis. The levels of ET-1 and eNOS protein were measured by ELISA method. **Result:** Compared with the HC and HS group, the high dose of *R. algida* var. *tangutica* showed the pharmacologic actions as follows: ① The development of mean pulmonary arterial pressure (mPAP),  $\text{RV}/\text{LV} + \text{S}$ , hemoglobin (Hb), haematocrit (Hct) (%) were inhibited ( $p < 0.01$ ); ② The muscularization and WT of pulmonary small artery were decreased ( $P < 0.05$ ); ③ The level of ET-1 mRNA was decreased and the level of eNOS mRNA was increased in lung ( $P < 0.05$ ). ④ The level of ET-1 protein content was decreased and the level of eNOS protein content was increased in sera ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** *R. algida* var. *tangutica* attenuates hypoxic pulmonary hypertension and remodeling of pulmonary small artery in HPH rats. The mechanisms are likely related to increase in level of eNOS mRNA and protein and decrease in level of ET-1 mRNA and protein.

[ **Key words** ] *Rhodiola algida* var. *tangutica*; hypoxic pulmonary hypertension; ET-1; eNOS

低氧性肺动脉高压 (hypoxic pulmonary hypertension, HPH) 是指正常人移居高原后, 由于缺氧, 引起肺小动脉功能及器质性改变, 从而导致肺动脉压力增高的病症。HPH 是引起高原性肺水肿和高原性心脏病的主要原因, 严重者可导致心衰。研究发现, 许多长期居住在高原的人群, HPH 的发病率可高达 5% ~ 10%<sup>[14]</sup>。降低 HPH 是有效防治高原病的关键所在。

红景天藏语称“索罗玛宝”。据《晶珠本草》记载: “索罗玛宝味甘、苦、涩, 性凉, 功效养肺, 清热, 滋补元气”。主产于青海、西藏等地, 生长在海拔 4 700 m 的高寒地区, 药材质地优良, 是青藏地区藏医临床常用藏药之一<sup>[5]</sup>。唐古特红景天是否具有降低 HPH 的作用? 为回答这一问题, 本实验通过模拟海拔 4 500 m 的缺氧环境, 研究了唐古特红景天 95% 乙醇提取物对大鼠 HPH 的作用, 并对其作用机制进行了初步探讨。

## 1 材料与方法

**1.1 动物** 健康雄性 Wistar 大鼠, 购于兰州医学院实验动物中心, 许可证号 SCXK (甘) 2009-0004, 体重 180 ~ 220 g。大鼠自由进食饮水。

**1.2 唐古特红景天 95% 乙醇提取物的制备及 HPLC 分析** 唐古特红景天采自青海省玉树州境内, 经青海大学医学院魏全嘉教授鉴定, 为景天科植物唐古特红景天 *Rhodiola algida* (Ledeb.) Fu var. *tangutica* (Maxim.) Fu 的干燥根。醇提物的制备: 每 100 g 唐古特红景天粗粉, 加 95% 乙醇 1 000 mL,

入旋转蒸发器旋蒸提取 3 次, 滤液浓缩后, 冷冻干燥 (北京博医康仪器公司)。HPLC 分析色谱柱为 Phenomenex kromasik  $\text{C}_{18}$  柱 (5 m, 250 mm × 460 mm): 流动相 A 为甲醇, 流动相 B 为 0.1% 的磷酸水溶液, 梯度洗脱程序: 0 min (5% A), 10 min (5% A), 60 min (100% A); 检测波长 220 nm; 流速  $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ; 柱温  $18 \text{ }^\circ\text{C}$ , 相对湿度 50%。将药物粉末用蒸馏水稀释, 配制 12.5% 和 25% 的药液备用。

**1.3 动物分组及模型复制** 大鼠随机分为 5 组: 对照组、低氧组、低氧 + 生理盐水  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  组、低氧 + 低剂量药物组 ( $1.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , ig)、低氧 + 高剂量药物组 ( $2.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , ig), 每组 15 只。除对照组外, 其余各组动物置于低压氧舱内 (模拟海拔 4 500 m 的高原环境), 每 24 h 开舱 0.5 h 加食、给水、灌药及清理卫生, 持续 30 d。5 组大鼠均自由饮水和摄食。

**1.4 血流动力学测定** 建模结束后, 对所有大鼠在 2 d 内进行平均肺动脉压 (mPAP), 右心室肥大指数  $[\text{RV}/(\text{LV} + \text{S})]$ , 血红蛋白 (Hb) 和红细胞压积 (Hct) 等测定。mPAP 的测定方法为: 用 25% 乌拉坦麻醉大鼠 ( $1.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 待麻醉平稳后, 分离出右侧颈外静脉, 用肝素化的弯头聚次亚乙烯管 (直径 0.28 mm) 沿颈外静脉插入, 至肺动脉, 插管位置利用其典型波形进行判定。压力换能器终端连接 MP100 压力信号采集系统 (美国 Biopac), 通过显示器观察波形变化, 并用相关软件进行采集和分析。右心肥大指数测定: 分离心脏, 剪去两心房及大血管, 沿室间隔

右心室边缘剪离右心室, 分别称量右心室(RV, mg)及左心室加室间隔(LV + S, mg)的质量, 并计算 RV/(LV + S) (mg · mg<sup>-1</sup>), 以反映缺氧对右心的影响。Hb 和 HCT 用 ABX-60 型血细胞分析仪测定。

**1.5 形态学指标观察** 从大鼠右肺下叶相同部位取组织块, 置 4 g · L<sup>-1</sup> 中性甲醛溶液 (pH 7.4) 中固定 1 周。常规石蜡包埋, 连续切片, HE 染色, 用 Image-Pro Plus 6.0 软件在切片上分别测量肺动脉 (直径 50 ~ 100 μm) 的外径、管壁厚度 (WT), 计算管壁厚度占外径的百分比 (WT%)。

表 1 引物序列

基因	正向引物	反向引物
ET-1	5'-TACTTCCACAAAGACCACAGA-3'	5'-TACGCCTTTCTGCATGCTACT-3'
eNOS	5'-GCAGAGGAGTCCAGCGAAC-3'	5'-CACAGCTACAGTGAGGTGGATC-3'
GAPDH	5'-AAGTTCAACGGCACAGTCAAG-3'	5'-CCACTGAGACTCCACGACATACTCA-3'

以获得的 cDNA 为模板进行 PCR 扩增, 得到目的片段, 进行纯化后与 pMD18-T 载体 (长度: 2 692 bp) 进行连接, 经转化, 细菌培养, 提取质粒备用。

**1.6.3 SYBR Green 实时荧光定量 PCR 检测** 采用 ABI 7500 FAST 型荧光定量 PCR 仪检测药物对动物肺组织 ET-1 mRNA, eNOS mRNA 表达的影响。将目的基因质粒对照品及内参基因质粒对照品分别稀释 5 个浓度梯度, 每个梯度重复 3 次, 同时做 3 个空白对照 (无菌水代替模板), 制作目的基因和内参基因的标准曲线。分别扩增目的基因及内参基因, PCR 反应体系为 25 μL; 2 × SYBR Green qPCR Master Mix 12.5 μL, 正、方向引物各 0.5 μL, cDNA 模板 2 μL, RNase-free water 9.5 μL。PCR 反应程序为: 95 °C 2 min; 95 °C 10 s; 60 °C 40 s; 40 个循环。实验结果以归一化值表示 (归一化值 = 目的基因浓度/内参基因浓度)。

**1.7 大鼠血清 ET-1, eNOS 蛋白含量测定** 经腹主动脉取血, 分离血清。用酶联免疫吸附法 (试剂盒购自美国 R&D 公司) 检测各组动物血清中 ET-1, eNOS 蛋白的含量。

**1.8 统计学分析** 实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 SPSS 19.0 统计软件处理, 多个样本比较采用单因素方差分析, 两两比较用 *q* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

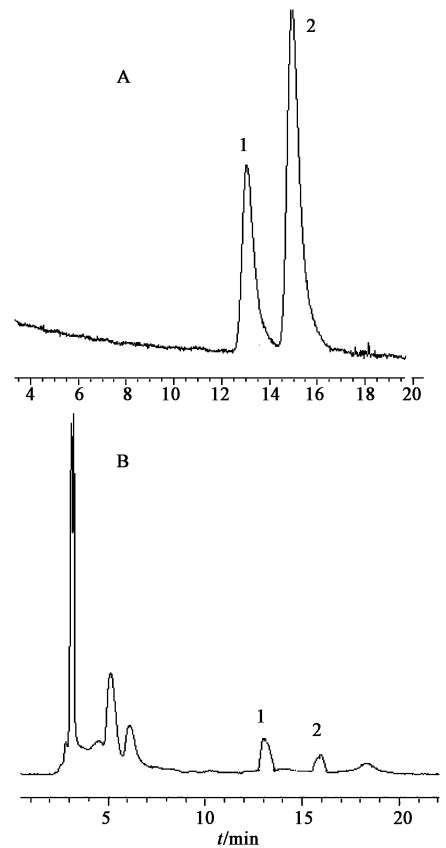
**2.1 HPLC 分析结果** 与对照品对比, 唐古特红景天 95% 乙醇提取物中有红景天苷和酪醇 (以及一些未知成分) 的存在, 两者的保留时间分别为 13.232,

**1.6 大鼠肺组织内皮素 1 (ET-1) mRNA, 一氧化氮合酶 (eNOS) mRNA 表达水平检测** 用实时荧光定量 PCR 检测。

**1.6.1 RNA 抽提** 取大鼠肺组织, 按 50 ~ 100 mg 肺组织 1 mL Trizol 的比例, 用 Trizol 试剂提取总 RNA, 电泳检测。

**1.6.2 cDNA 模板扩增和质粒对照品制备** 使用 TaKaRa 公司的 Prime Script Reverse Transcriptase 试剂进行逆转录反应。ET-1, eNOS, GAPDH (内参) 基因的引物序列见表 1。

15.902 min。见图 1。



A. 对照品; B. 唐古特红景天 95% 乙醇提取物;  
1. 红景天苷; 2. 酪醇

图 1 高效液相色谱

**2.2 唐古特红景天对低 HPH 大鼠血流动力学的影响** 低氧组和低氧生理盐水组大鼠 mPAP, RV/(LV + S), Hb, Hct 均显著高于对照组 (*P* < 0.01)。唐

古特红景天高剂量组与低氧组和低氧生理盐水组比,可显著降低大鼠的上述各值( $P < 0.01$ )。和低

剂组比,高剂量唐古特红景天可显著降低大鼠的 mPAP, Hb( $P < 0.01$ )。见表 2。

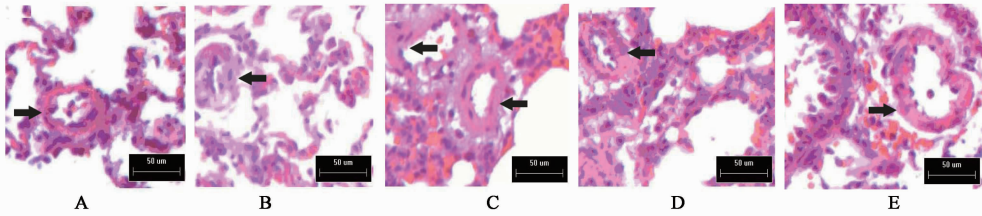
表 2 唐古特红景天对大鼠 mPAP, RV/(LV+S), Hb 和 Hct 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 15$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	mPAP/mmHg	RV/LV + S/%	Hb/ $g \cdot L^{-1}$	Hct/%
对照	-	17.45 ± 1.69	25.18 ± 0.02	14.46 ± 1.17	47.57 ± 2.41
低氧	-	42.36 ± 3.47 <sup>1)</sup>	47.73 ± 0.03 <sup>1)</sup>	24.31 ± 2.27 <sup>1)</sup>	72.84 ± 4.72 <sup>1)</sup>
低氧 + 生理盐水	-	40.36 ± 4.11 <sup>1)</sup>	42.40 ± 0.01 <sup>1,2)</sup>	22.20 ± 2.60 <sup>1,2)</sup>	66.33 ± 5.08 <sup>1,2)</sup>
低氧 + 唐古特红景天	1.25	32.76 ± 3.14 <sup>1,2,3)</sup>	39.70 ± 0.02 <sup>1,2)</sup>	20.06 ± 2.53 <sup>1,2)</sup>	58.12 ± 5.23 <sup>1,2,3)</sup>
	2.50	24.81 ± 2.85 <sup>1,2,3,4)</sup>	36.58 ± 0.03 <sup>1,2,3)</sup>	17.70 ± 1.38 <sup>1,2,3,4)</sup>	55.03 ± 4.32 <sup>1,2,3)</sup>

注:与对照组比较<sup>1)</sup> $P < 0.01$ ;与低氧组比较<sup>2)</sup> $P < 0.01$ ;与低氧 + 生理盐水组比较<sup>3)</sup> $P < 0.01$ ;与低氧 + 唐古特红景天 1.25  $g \cdot kg^{-1}$  组比较<sup>4)</sup> $P < 0.01$ , (表 2 同)。

2.3 唐古特红景天对肺小动脉形态和 WT% 的影响 HE 染色后经光镜观察可见,对照组大鼠的肺动脉完整平滑,管壁菲薄,肌层无增厚;低氧组和低氧生理盐水组大鼠的肺动脉管壁明显增厚,表现

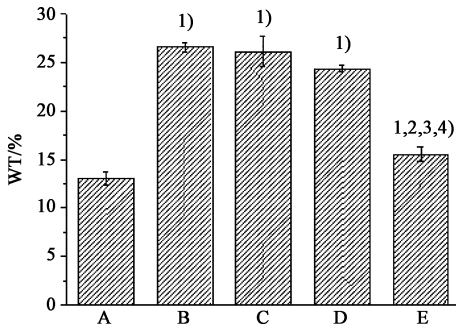
出肺动脉重构的特征;高剂量唐古特红景天处理后,大鼠肺动脉平滑肌肌层厚度较低氧对照组和低氧生理盐水组有所减轻,肺动脉重构情况有逆转。见图 2。



A. 对照组; B. 低氧组; C. 低氧生理盐水组; D. 低氧 + 唐古特红景天 1.25  $g \cdot kg^{-1}$  组; E. 低氧 + 唐古特红景天 2.5  $g \cdot kg^{-1}$  组 (图 3~4 同)。  
图 2 唐古特红景天醇提取物对 HPH 大鼠肺小动脉形态的影响 (HE,  $\times 400$ )

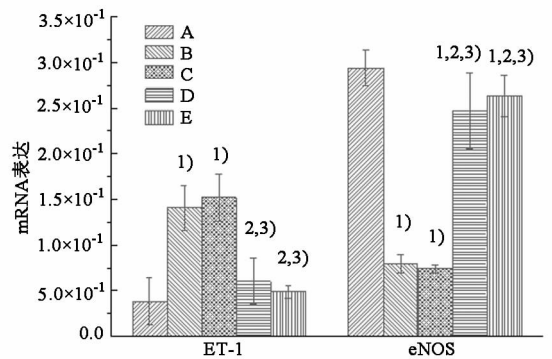
低氧处理各组大鼠的 50 ~ 100  $\mu m$  肺动脉的 WT% 显著高于对照组( $P < 0.05$ ),而高剂量药物组与低氧组、低氧生理盐水组及低剂量药物组相比,肺血管的肌化程度显著降低( $P < 0.05$ )。各组大鼠肺动脉的 WT% 变化见图 3。

相比,可降低肺组织 ET-1 mRNA 表达水平( $P < 0.05$ )。低氧组和低氧生理盐水组动物肺组织 eNOS mRNA 表达下降。与低氧组和低氧生理盐水组相比,唐古特红景天处理上调了 eNOS mRNA 的表达水平( $P < 0.05$ )。见图 4。



与对照组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ;与低氧组比较<sup>2)</sup> $P < 0.05$ ;  
与低氧 + 生理盐水组比较<sup>3)</sup> $P < 0.05$ ;  
与低氧 + 唐古特红景天 1.25  $g \cdot kg^{-1}$  组比较<sup>4)</sup> $P < 0.05$

图 3 唐古特红景天对动物血管壁厚百分比的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )



与对照组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ;与低氧组比较<sup>2)</sup> $P < 0.05$ ;  
与低氧 + 生理盐水组比较<sup>3)</sup> $P < 0.05$

图 4 唐古特红景天对大鼠肺组织 ET-1 mRNA, eNOS mRNA 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

2.4 唐古特红景天对大鼠肺组织 ET-1 mRNA, eNOS mRNA 表达水平的影响 低氧组和低氧生理盐水组动物肺组织 ET-1 mRNA 的表达明显升高( $P < 0.05$ )。药物处理后,与低氧组和低氧生理盐水组

2.5 唐古特红景天对大鼠血清 ET-1, eNOS 蛋白含量的影响 低氧组和低氧生理盐水组动物血清 ET-1 蛋白的含量明显升高( $P < 0.05$ )。高剂量唐古特

红景天处理后,与低氧组和低氧生理盐水组相比,可降低血清 ET-1 蛋白含量,与对照组相比无显著差异。低氧组和低氧生理盐水组动物血清 eNOS 的含量显著下降,高剂量唐古特红景天处理后,与低氧组和低氧生理盐水组相比,可上调 eNOS 蛋白的含量 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 3 唐古特红景天对大鼠血清 ET-1, eNOS 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	ET-1 /ng·L <sup>-1</sup>	eNOS /pg·L <sup>-1</sup>
对照	-	88.22 ± 13.24	1.56 ± 0.18
低氧	-	125.08 ± 9.12 <sup>1)</sup>	1.31 ± 0.10 <sup>1)</sup>
低氧 + 生理盐水	-	117.79 ± 14.72 <sup>1,2)</sup>	1.31 ± 0.11 <sup>1)</sup>
低氧 + 唐古特红景天	1.25	106.14 ± 7.69 <sup>1,2)</sup>	1.42 ± 0.20
	2.50	94.12 ± 16.28 <sup>2,3,4)</sup>	1.48 ± 0.14 <sup>2,3)</sup>

### 3 讨论

本研究利用低压氧舱模拟海拔 4 500 m 的高原环境,建立大鼠 HPH 动物模型。结果显示,低氧处理 30 d,大鼠的 mPAP 升高,提示形成了 HPH;RV/(LV + S) 的增加,进一步说明了存在肺动脉高压并导致右心室肥厚;Hb 含量和 Hct 的比值增加,是机体对长期低氧刺激的红细胞继发性反应,也是促使肺动脉压力增高的因素之一;光镜观察可见,肺动脉管壁的 WT% 明显增加,提示在 HPH 形成过程中出现了肺小动脉的重构。

唐古特红景天为红景天属植物之一,主产于青海、西藏等地,生长在海拔 4 700 m 的高寒地区,药材质地优良,是青藏地区藏医临床常用藏药之一。本实验结果显示,与低氧组和低氧生理盐水组比较,高剂量的唐古特红景天干预 30 d 后,大鼠的 mPAP, RV/(LV + S) 指标都有不同程度的改善,说明唐古特红景天具有一定的降低 HPH 的作用。药物组 Hb 和 Hct 均明显降低,反映出唐古特红景天可降低红细胞压积,而血液黏稠度下降可在一定程度上降低肺血管阻力,减轻肺动脉高压。光镜观察发现,唐古特红景天干预后,大鼠肺动脉平滑肌肌层厚度较低氧组和低氧生理盐水组有所减轻,肺动脉重构情况有逆转,提示唐古特红景天对低氧所致的肺血管的重构具有一定的防治作用。

长期低氧引起肺血管内皮细胞受损和(或)功能障碍,从而导致内源性肺血管舒张和收缩物质分泌失衡,是引起 HPH 发生、发展的原因之一<sup>[6]</sup>。内皮素-1(ET-1)是由内皮细胞分泌的一种缩血管物

质,具有收缩肺动脉、刺激肺动脉平滑肌细胞增生的作用,是引起低氧条件下肺血管重构的重要介质<sup>[7-9]</sup>。我们发现,高剂量唐古特红景天干预后,大鼠血清 ET-1 蛋白含量和肺组织 ET-1 mRNA 表达明显低于低氧组和低氧生理盐水组,表明唐古特红景天对 HPH 的预防及其减轻低氧条件下肺血管重构的作用与其减少 ET-1 的合成和释放有关。一氧化氮(NO)是血管内皮细胞合成和释放的血管舒张因子之一,可调节肺血管张力,调控平滑肌增殖和血管重构<sup>[10]</sup>。NOS 是 NO 合成中的限速酶,其中 eNOS 是钙依赖型 NOS,主要负责肺和血管基础 NO 合成。长期低氧可抑制 eNOS 基因和蛋白的表达,导致 eNOS 含量降低,从而使内源性 NO 的合成和释放量减少,促进 HPH 的发生和发展<sup>[11-13]</sup>。

本实验结果显示,高剂量唐古特红景天可上调大鼠肺组织 eNOS mRNA 的表达和肺组织 eNOS 蛋白含量;eNOS 含量的升高可通过促进 NO 的合成和释放而扩张肺血管并对抗 ET-1 所致的血管收缩作用,从而干预了 HPH 的发展。

综上,唐古特红景天可以在一定程度上降低 HPH 大鼠的平均肺动脉压,减轻右心室肥厚,改善肺血管重构。唐古特红景天降低低 HPH 的作用机制可能与其上调 eNOS mRNA 和蛋白表达、抑制 ET-1 mRNA 和蛋白表达有关。

### [参考文献]

- [1] Ge R L, Hackett P. Life on the Qinghai-tibetan plateau [J]. Beijing: Peking University Medical Press, 2007, 7:100.
- [2] Cahill E, Rowan S C, Sands M, et al. The pathophysiological basis of chronic hypoxic pulmonary hypertension in the mouse: vasoconstrictor and structural mechanisms contribute equally [J]. Experimental Physiology, 2012, 97(6):796.
- [3] Carlin C M, Celnik D F, Pak O, et al. Low-dose fluvastatin reverses the hypoxic pulmonary adventitial fibroblast phenotype in experimental pulmonary hypertension[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2012, 47(2):140.
- [4] Miao Q, Shi X P, Ye, M X, et al. Polydatin attenuates hypoxic pulmonary hypertension and reverses remodeling through protein kinase C mechanisms[J]. Int J Mol Sci, 2012, 13(6):7776.
- [5] 何延农, 卢生莲, 黄荣富. 藏药志[M]. 西宁:青海人民出版社, 1990:433.

# 卫气营血辨证肺损伤肺表面活性蛋白 mRNA 表达的动态变化

邓时贵<sup>1</sup>, 叶莹仪<sup>1</sup>, 彭珍香<sup>2\*</sup>

(1. 广东省中医院, 广州 510120; 2. 广州花海药业股份有限公司, 广州 510370)

**[摘要]** **目的:**探讨卫气营血辨证肺损伤时肺表面活性蛋白 SP-A, SP-B, SP-C mRNA 表达随时间变化的规律。**方法:**30 只新西兰兔随机分为正常对照组和卫气营血辨证肺损伤组(2 h 代表卫分组, 6 h 代表气分组, 12 h 代表营分组, 24 h 代表血分组, 各 1 组), 每组 6 只采用耳缘静脉推注脂多糖(LPS)建立卫气营血辨证肺损伤模型, 注射 LPS 后处死各组动物, 采用 RT-PCR 法检测肺组织 SP-A, SP-B, SP-C mRNA 表达变化。正常对照组麻醉后取肺组织标本待测。**结果:**与正常对照组相比, 卫气营血辨证肺损伤卫分、气分、营分、血分各亚组 SP-A, SP-B, SP-C mRNA 表达显著下降( $P < 0.05$ )。SP-C 气分组与卫分组相比 mRNA 表达无显著性差异, 其余卫气营血辨证肺损伤各亚组间 SP-A, SP-B, SP-C mRNA 表达均具有显著性差异( $P < 0.05$ ), 并随注射 LPS 时间延长, SP mRNA 表达明显降低, 其表达与肺损伤程度呈负相关。**结论:**卫气营血辨证肺损伤兔肺表面活性蛋白 SP-A, SP-B, SP-C mRNA 表达呈时间依赖性降低, 是卫气营血辨证肺损伤的重要物质基础之一。

**[关键词]** 卫气营血辨证; 肺损伤; 肺表面活性蛋白

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)06-0279-04

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20130124.0928.004.html>

**[网络出版时间]** 2013-01-24 9:28

**[收稿日期]** 20120813(491)

**[基金项目]** 广东省科技厅项目(2009B060300025); 广东省中医药管理局项目(2009189)

**[第一作者]** 邓时贵, 研究员, 硕士, 从事药理研究工作, E-mail: dengshigui@yahoo.com.cn

**[通讯作者]** \* 彭珍香, 硕士, 实习研究员, 从事药学工作, E-mail: xzhpeng@yahoo.cn

- [6] Marsboom G, Pokreisz P, Vermeersch P, et al. Functional impairment of endothelial progenitor cells in hypoxic pulmonary hypertension [J]. *Euro Heart J*, 2006, 27: 832.
- [7] Luke T, Maylor J, Udem C, et al. Kinase-dependent activation of voltage-gated  $Ca^{2+}$  channels by ET-1 in pulmonary arterial myocytes during chronic hypoxia [J]. *Am J Physiol-Lung Cell Mol Physiol*, 2012, 302(10): L1128.
- [8] Olave N, Nicola T, Zhang W, et al. Transforming growth factor-beta regulates endothelin-1 signaling in the newborn mouse lung during hypoxia exposure [J]. *Am J Physiol-Lung Cell Mol Physiol*, 2012, 302(9): L857.
- [9] Chuang I C, Dong H P, Yang R C, et al. Effect of carbon dioxide on pulmonary vascular tone at various pulmonary arterial pressure levels induced by endothelin-1 [J]. *Lung*, 2010, 188(3): 199.
- [10] Kirsch M, Kemp-Harper B, Weissmann N, et al. Sildenafil in hypoxic pulmonary hypertension potentiates a compensatory up-regulation of NO-cGMP signaling [J]. *Faseb Journal*, 2008, 22(1): 30.
- [11] Diao Y G, Jin Q, Zhou, J, et al. Transplantation of endothelial progenitor cells transfected with the eNOS gene for the therapy of hypoxic pulmonary hypertension in the rat [J]. *Br J Anaesth*, 2012, 108(3): 548.
- [12] 张凌云, 欧敏, 黄友章, 等. 益肺活血颗粒对缺氧培养大鼠肺动脉平滑肌细胞 NO, iNOS 的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(23): 117.
- [13] Zong F, Zuo X R, Wang Q, et al. Iptakalim rescues human pulmonary artery endothelial cells from hypoxia-induced nitric oxide system dysfunction [J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2012, 3(3): 535.

[责任编辑 何伟]