

## 六月青多糖对 S180 荷瘤小鼠免疫功能 及 p53, Bcl-2, Bax 表达的影响

汤小军<sup>1,2</sup>, 黄建春<sup>1</sup>, 黄仁彬<sup>1\*</sup>, 陈芳梅<sup>2</sup>, 朱华<sup>2</sup>

(1. 广西医科大学, 南宁 530021; 2. 广西卫生职业技术学院, 南宁 530021)

**[摘要]** **目的:**探讨六月青多糖对 S180 荷瘤小鼠免疫功能及凋亡基因 p53, B 细胞淋巴瘤/白血病-2 (Bcl-2), 多肽抗原 (Bax) 表达的影响。**方法:**将 50 只小鼠于右腋下接种 S180 腹水肿瘤细胞建立 S180 荷瘤模型, 造模 24 h 后随机分为 5 组: 模型 (生理盐水  $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) 组, 环磷酰胺 ( $0.02 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) 组, 六月青多糖高、中、低剂量 (分别为  $1.2, 0.6, 0.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) 组。除环磷酰胺组隔天 ip 给药外, 余均 ig 给药 10 d。停药 24 h 后检测荷瘤小鼠抑瘤率、胸腺系数和脾脏系数; MTT 法检测 ConA 刺激脾淋巴细胞转化功能; 中性红法检测腹腔巨噬细胞吞噬功能; 免疫组织化学法检测肿瘤组织中 p53, Bcl-2, Bax 蛋白。**结果:**六月青多糖高剂量 ( $1.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) 抑瘤率达 38%; 与模型组比较, 六月青多糖各剂量组胸腺系数显著增高 ( $P < 0.05$ ), 高、中剂量组脾脏系数、脾淋巴细胞刺激指数和腹腔巨噬细胞吞噬功能显著增高 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ); 六月青多糖各剂量组 p53 表达无明显差异; 高剂量组 Bcl-2 表达显著减弱 ( $P < 0.05$ ) 而 Bax 表达明显增强 ( $P < 0.05$ )。**结论:**六月青多糖能抑制小鼠 S180 肿瘤生长, 其机制与增强 S180 荷瘤小鼠免疫功能、下调 Bcl-2 蛋白及上调 Bax 蛋白的表达有关。

**[关键词]** 六月青多糖; S180 肉瘤; 免疫功能; p53; B 细胞淋巴瘤/白血病-2; Bax

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)04-0250-05

## Effects of Liuyueqing Polysaccharides on Immunological Function and p53, Bcl-2, Bax Oncoproteins Expression in S180 Tumor-bearing Mice

TANG Xiao-jun<sup>1,2</sup>, HUANG Jian-chun<sup>1</sup>, HUANG Ren-bin<sup>1\*</sup>, CHEN Fang-mei<sup>2</sup>, ZHU Hua<sup>2</sup>

(1. Guangxi Medical University, Nanning 530021, China; 2. Guangxi Health College, Nanning 530021, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effects of Liuyueqing polysaccharides on immunological function and p53, B cell lymphoma/leukemia-2 (Bcl-2), Bcl-2 associatid X protein (Bax) oncoproteins expression in S180 tumor-bearing mice. **Method:** Fifty mice were inoculated subcutaneously with S180 cell in right axilla. Twenty-four h after inoculation, these mice were randomly divided into 5 groups: tumor model group (NS  $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ), cyclophosphamide (CTX) group ( $0.02 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) and high, medium, low-doses of Liuyueqing polysaccharides-treated groups ( $1.2, 0.6, 0.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ). Except that the cyclophosphamide group subjected to intraperitoneal injection, other groups were given intragastric administration with drugs for 10 days. 24 h after last dose of drug, the inhibitory rate of transplantable tumor in mice was observed. Thymus and spleen were culled and weighed, indexes of thymus and spleen were calculated. Proliferated ability of spleen lymphocyte was assayed by MTT method. The phagocytized ability of enterocoelia macrophage was assayed by neutral red method. The oncoproteins expression of p53, Bcl-2 and Bax in the tumor tissue were studied by immunohistochemistry. **Result:** The inhibitory rate of high dosage of Liuyueqing polysaccharides ( $1.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) was 38%. Compared to tumor

**[收稿日期]** 20120903(025)

**[基金项目]** 广西科学研究与科技开发攻关项目(桂科攻 10124008-6); 广西地方性高发疾病防治研究重点实验室基金(KFJJ2010-22); 广西卫生职业技术学院项目(WZ2012ZA01)

**[第一作者]** 汤小军, 讲师, 医学硕士, 从事免疫研究工作, Tel: 0771-2919595, E-mail: tangxiaojun008@163.com

**[通讯作者]** \* 黄仁彬, 教授, 博士生导师, 药理博士, 从事抗肝炎和抗肿瘤药物研究, Tel: 0771-5358272, E-mail: huangrenbin518@163.com

model group, the indexes of thymus in each dose group were increased significantly ( $P < 0.05$ ). The indexes of spleen, proliferated ability of spleen lymphocyte and the phagocytized ability of enterocoelia macrophage in high, medium-doses groups were increased significantly ( $P < 0.01$  or  $P < 0.05$ ). The oncoproteins expressions of p53 in each dose group were not significantly different. The oncoproteins expression of Bcl-2 in high-dose group was decreased significantly ( $P < 0.05$ ). The oncoproteins expression of Bax in high-dose group was increased significantly ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Liuyueqing polysaccharides has significant antitumor effect on S180 tumor-bearing mice. Enhancing the immunological function, down-regulation of Bcl-2 oncoproteins expression and up-regulation of Bax oncoproteins expression might be the main mechanisms of antitumor effect on S180 tumor-bearing mice.

[ **Key words** ] Liuyueqing polysaccharides; S180 tumor-bearing mice; immunological function; p53; Bcl-2; Bax

六月青系爵床科植物肖鸡笼(顶花马兰) *Taraphochlamys affinis* (Griff) Bremekhu [*Strobilanthes affinis* (Griff) Y. C. Tang] 的干燥地上部分<sup>[1]</sup>,是一种广西民间草药,《本草拾遗》记载六月青能活血、凉血、疏肝泻湿、消肿止痛,主要用于急慢性肝炎、黄疸等治疗<sup>[2]</sup>。六月青与白花蛇舌草、半枝莲等 6 味药配伍组成的制剂复方六月雪,民间用来治疗乙型肝炎、肝硬化、肝癌等,疗效显著<sup>[3]</sup>。前期研究发现六月青对小鼠免疫肝损伤具有保护作用<sup>[4]</sup>;六月青的石油醚提取部位和 60% 乙醇提取部位对小鼠的免疫功能有明显的增强作用,能抑制 SGC7901, MGC803, MDA-MB-231, KB 癌细胞和 S180 肉瘤的生长<sup>[5]</sup>。本实验观察六月青多糖对 S180 荷瘤小鼠免疫功能及凋亡基因(p53)、B 细胞淋巴瘤/白血病-2 (Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)蛋白表达的影响,为六月青的进一步研究及开发利用提供科学依据。

## 1 材料

**1.1 动物** SPF 级昆明种小鼠,雌雄各半,体重 18 ~ 22 g,由广西医科大学实验动物中心提供,动物生产许可证 SCXK(桂)2003-0003,试验动物使用许可证 SYKG(桂)2003-0005。

**1.2 药品和试剂** 六月青多糖由广西医科大学药学院提取,硫酸-苯酚法测定多糖含量为 75.81%;环磷酰胺(CTX)注射液(江苏恒瑞医药股份有限公司,批号 1005092);RPMI-1640 培养基(Gibco 公司,批号 1285082);刀豆蛋白 A(Con A,北京北方同正生物有限公司,批号 101208);噻唑蓝(MTT, Amresco,批号 1089);DAB 显色试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司,批号 364311AJ)和即用型二步法(非生物素)PV6001 兔二步法试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司,批号 030923);p53, Bcl-2, Bax 兔抗小鼠多克隆抗体(Santa Cruz Biotechnology 公司, Lot No. 0901,

1005, 1402)。

**1.3 仪器** MK3 Multiskon 型酶标仪(Thermo Labsystems 公司),2323-2 型水套式二氧化碳培养箱(美国 Shellab),3K-15 型台式高速冷冻离心机(德国 Sigma)。

**1.4 瘤株** 小鼠肉瘤 S180,由广西中医药研究院药理室提供。

## 2 方法

**2.1 造模、分组及给药** 取 7 d S180 瘤株小鼠的腹水,用无菌生理盐水稀释至  $2 \times 10^6$  个活细胞/mL,取 0.2 mL 接种小鼠右前肢腋下。24 h 后,随机分 5 组,每组 10 只。模型组(生理盐水  $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ),CTX 组( $0.02 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ),六月青多糖高剂量组( $1.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )、中剂量组( $0.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )、低剂量组( $0.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )。除 CTX 组隔天腹腔注射给药外,余均灌胃给药 10 d。质评标准为具有下列一项则实验资料作废<sup>[6]</sup>:①模型组小鼠肿瘤平均瘤重小于 1 g 或 20% 小鼠的瘤重小于 0.4 g。②给药组小鼠死亡超过 20%,或去瘤后平均体重下降超过 15%。

**2.2 六月青多糖的抑瘤作用** 每天观察记录各组小鼠生存状况并称重。第 11 天颈椎脱臼法处死小鼠,剪开小鼠右腋下皮下组织,剥离肿瘤,称重,计算抑瘤率。

$$\text{抑瘤率} = (\text{模型组瘤重} - \text{实验组瘤重}) / \text{模型组瘤重} \times 100\%$$

**2.3 对免疫器官的影响** 第 11 天称体重并处死小鼠,取胸腺和脾脏,吸干表面血液,称重,按胸腺(脾脏)系数 = 胸腺(脾脏)质量(mg)/体重(g)计算胸腺系数和脾脏系数。

**2.4 脾淋巴细胞转化功能测定** 无菌取脾脏制备脾淋巴细胞悬液,用 RPMI-1640 培养基调整细胞密度为  $5 \times 10^6$ /mL,台盼蓝检测细胞活力 > 95%。加

入 96 孔培养板中,细胞悬液 100  $\mu\text{L}$ /孔,设对照孔 3 孔加 RPMI-1640 培养液 100  $\mu\text{L}$ /孔;ConA 刺激孔 3 孔加 ConA(10  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )溶液 100  $\mu\text{L}$ /孔。置 37  $^{\circ}\text{C}$  5%  $\text{CO}_2$  培养箱中孵育 68 h,取出每孔加入 10  $\mu\text{L}$  MTT(5  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )溶液,继续孵育 4 h。1 000  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 10 min,吸去上清,每孔加入二甲基亚砜 150  $\mu\text{L}$ ,振荡 10 min,570 nm 波长测吸光度(A),计算刺激指数(SI)。

$$\text{SI} = \text{Con A 刺激孔 } A / \text{对照孔 } A$$

**2.5 腹腔巨噬细胞吞噬功能测定** 处死小鼠,向小鼠腹腔内无菌注入 4 mL 无菌 PBS,轻揉腹部,吸出腹腔内液体,1 500  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 5 min,弃上清,用 RPMI-1640 培养基调整细胞密度为  $5 \times 10^6/\text{mL}$ ,台盼蓝检测细胞活力 > 95%。加入 96 孔板,100  $\mu\text{L}$ /孔,3 复孔/只鼠。37  $^{\circ}\text{C}$ ,5%  $\text{CO}_2$  培养箱培养 2 h,PBS 液洗板。加入 0.1% 中性红 100  $\mu\text{L}$ /孔,37  $^{\circ}\text{C}$ ,5%  $\text{CO}_2$  培养箱中培养 2 h,甩弃中性红,吸干,加细胞裂解液 200  $\mu\text{L}$ /孔,混匀,492 nm 波长测 A 值。

**2.6 免疫组织化学检测癌基因表达蛋白** 剥离的瘤组织用福尔马林固定,石蜡包埋,连续切片,按试剂盒说明进行染色。免疫组化染色半定量分析参考文献[7],在每个切片上、下、左、右、中各随机选取一个 400 倍视野,观察、计算阳性细胞数。镜下观察各组免疫组化片进行综合评分。(1)阳性表达率:① 阳性表达率为 0 计 0 分;② 阳性表达率  $\leq 25\%$  计 1 分;③ 阳性表达率为 26% ~ 50% 计 2 分;④ 阳性表达率为 51% ~ 75% 计 3 分;⑤ 阳性表达细胞

数 > 75% 计 4 分。(2)表达强度:① 阳性信号强烈,呈棕褐色,小块状,计为 3 分;② 阳性信号中等,呈棕色,粗颗粒状,计为 2 分;③ 阳性信号较弱,呈淡棕色,细颗粒状,计为 1 分;④ 无阳性信号,计为 0 分。每个视野的染色得分为该视野各级染色强度得分与该强度阳性率得分的乘积之和,一个样本的综合得分取该样本 10 个视野的染色得分均值。

**2.7 统计学处理** 采用 SPSS 13.0 软件分析数据,以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较用方差分析,两两比较用  $t$  检验, $P < 0.05$  为差异有显著性。

### 3 结果

**3.1 对 S180 荷瘤小鼠的抑瘤作用** 与模型组比较,六月青多糖各剂量组对小鼠体重均无明显差异,而肿瘤质量明显减轻( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ),其中六月青多糖高剂量组和 CTX 组抑瘤率均 > 30%。见表 1。

**3.2 对免疫器官的影响** 与模型组比较,六月青多糖各剂量组胸腺系数明显增高( $P < 0.05$ ),高、中剂量组脾脏系数明显增高( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。见表 2。

**3.3 对脾淋巴细胞转化功能的影响** 六月青多糖各剂量组的脾淋巴细胞刺激指数较模型组均升高,高、中剂量组升高明显( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。见表 2。

**3.4 对腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响** 六月青多糖各剂量组较模型组均能提高腹腔巨噬细胞吞噬功能,高、中剂量组提高明显( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 1 六月青多糖对 S180 荷瘤小鼠移植瘤的作用( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 $/\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$	体重/g		肿瘤质量/g	抑瘤率/%
		用药前	用药后		
模型	-	19.77 $\pm$ 1.09	24.55 $\pm$ 1.24	1.50 $\pm$ 0.31	-
CTX	0.02	19.91 $\pm$ 1.24	26.42 $\pm$ 2.33 <sup>1)</sup>	0.61 $\pm$ 0.24 <sup>2)</sup>	59.33
六月青多糖	1.20	19.75 $\pm$ 1.18	26.08 $\pm$ 1.15	0.93 $\pm$ 0.31 <sup>2)</sup>	38.00
	0.60	19.81 $\pm$ 1.11	25.64 $\pm$ 1.11	1.06 $\pm$ 0.42 <sup>1)</sup>	29.33
	0.30	20.25 $\pm$ 1.01	25.21 $\pm$ 1.26	1.10 $\pm$ 0.43 <sup>1)</sup>	26.67

注:与模型组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ (表 2 ~ 3 同)。

表 2 六月青多糖对 S180 荷瘤小鼠免疫功能的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 $/\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$	胸腺系数 $/\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	脾脏系数 $/\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	刺激指数	A
模型	-	2.49 $\pm$ 0.63	4.94 $\pm$ 2.12	1.41 $\pm$ 0.39	0.97 $\pm$ 0.15
CTX	0.02	2.19 $\pm$ 0.69	4.04 $\pm$ 1.27	1.39 $\pm$ 0.54	0.70 $\pm$ 0.28 <sup>1)</sup>
六月青多糖	1.20	3.27 $\pm$ 0.82 <sup>1)</sup>	7.48 $\pm$ 1.40 <sup>2)</sup>	2.33 $\pm$ 0.67 <sup>2)</sup>	1.22 $\pm$ 0.25 <sup>1)</sup>
	0.60	3.25 $\pm$ 0.78 <sup>1)</sup>	7.26 $\pm$ 2.10 <sup>1)</sup>	2.24 $\pm$ 0.90 <sup>1)</sup>	1.20 $\pm$ 0.30 <sup>1)</sup>
	0.30	3.19 $\pm$ 0.80 <sup>1)</sup>	6.67 $\pm$ 1.76	1.80 $\pm$ 0.69	1.09 $\pm$ 0.15

**3.5 肉瘤组织中凋亡相关蛋白表达** S180 荷瘤小鼠肉瘤组织中,六月青多糖各剂量组 p53 表达与模型组比较未见明显变化;高剂量组 Bcl-2 表达较模型组明显减弱 ( $P < 0.05$ );高剂量组 Bax 表达与模型组比较明显增强 ( $P < 0.05$ )。见表 3 及图 1。

表 3 免疫组织化学染色综合评分 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	综合评分/分		
		p53	Bcl-2	Bax
模型	-	9.22 ± 2.35	13.14 ± 5.13	15.02 ± 3.57
CTX	0.02	17.32 ± 4.18 <sup>2)</sup>	13.95 ± 4.62	21.84 ± 4.39 <sup>2)</sup>
六月青多糖	1.20	8.71 ± 2.79	9.15 ± 3.01 <sup>1)</sup>	20.07 ± 4.35 <sup>1)</sup>
	0.60	8.85 ± 2.81	9.32 ± 3.22	18.62 ± 4.08
	0.30	9.01 ± 3.02	9.38 ± 2.84	17.95 ± 4.10

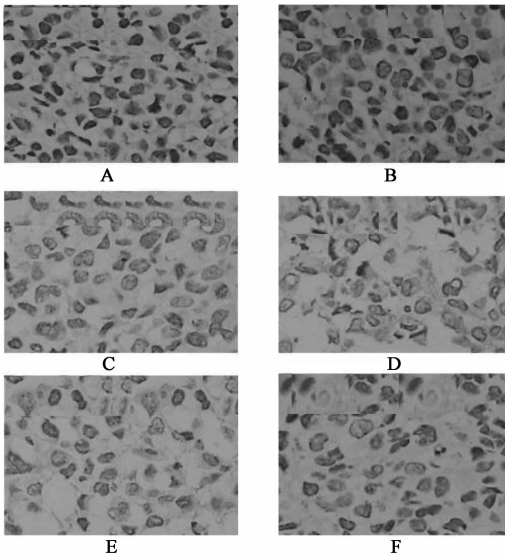
多糖能从一定程度上改善荷瘤小鼠的胸腺和脾脏状况。T 淋巴细胞增殖反应率能够代表机体免疫能力的重要免疫指标<sup>[9-10]</sup>,淋巴细胞刺激指数的高低,在一定程度上反映了机体抗肿瘤免疫功能状态。六月青多糖各剂量的脾淋巴细胞刺激指数均升高,高、中剂量升高明显,提示六月青多糖可增强脾脏淋巴细胞的增殖活性,这可能是其发挥抗肿瘤作用的机制之一。巨噬细胞是体内执行非特异性免疫的主要细胞,是早期肿瘤免疫监视机制中担负重要作用的效应细胞。本实验研究发现,六月青多糖各剂量均能提高腹腔巨噬细胞吞噬功能,高、中剂量提高明显,提示六月青多糖能通过激活巨噬细胞而达到抑瘤作用。

肿瘤的发生与肿瘤细胞的生长速度和死亡速度有关,细胞凋亡缺陷或受阻是肿瘤发生发展的重要因素,而癌基因与抑癌基因均可影响细胞凋亡,如 Bcl-2, c-myc, p53, ras 等。目前较为公认的是 Bcl-2 基因与细胞凋亡的关系<sup>[11]</sup>,Bcl-2 基因具有抑制细胞凋亡的能力,其活性可被 Bax 蛋白调节<sup>[12]</sup>,Bax 与 Bcl-2, p53 共同参与调节细胞凋亡<sup>[13]</sup>。多糖可以通过诱导细胞凋亡及对凋亡相关基因的影响等发挥抗肿瘤作用<sup>[14]</sup>。本实验研究发现,S180 荷瘤小鼠肉瘤组织中 Bcl-2, Bax 均有不同程度的表达,高剂量六月青多糖能明显减弱 Bcl-2 表达而明显增强 Bax 表达,提示六月青多糖抗肿瘤的分子机制可能与调节肿瘤细胞 Bcl-2, Bax 基因有关。

综上所述,六月青多糖能通过提高胸腺系数和脾脏系数、脾淋巴细胞转化功能和腹腔巨噬细胞吞噬功能而提高 S180 荷瘤小鼠的免疫功能,能减弱 Bcl-2 表达而增强 Bax 表达调控肿瘤细胞凋亡,推测这是六月青多糖抗肿瘤作用机制之一,其他机制有待进一步研究。

[参考文献]

[1] 黄权芳,林兴,黄仁彬,等. 六月青皂苷体外对乙型肝炎病毒共价闭合环状脱氧核糖核酸抑制作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(13):149.  
 [2] 黄仁彬,黄权芳,张士军,等. 六月青总皂苷抗鸭乙型肝炎病毒作用研究[J]. 中药药理与临床, 2010, 26(1):37.  
 [3] 张士军,焦杨,黄仁彬,等. 复方六月雪对 HepG2. 2. 15 细胞 HBV DNA 的抑制作用[J]. 中药药理与临床, 2007, 23(1):59.  
 [4] 林兴,黄权芳,张士军等. 六月青皂苷对小鼠免疫性肝损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(15):117.



A, C, E. 六月青多糖高剂量 1.2 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>组;  
 B, D, F. 模型(生理盐水 20 mL·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)组;  
 (A, B. p53 表达; C, D. Bcl-2 表达; E, F. Bax 表达)

图 1 六月青多糖对 S180 肉瘤组织中

凋亡相关蛋白表达的影响(免疫组化染色, ×400)

4 讨论

一般认为中药的抑瘤率超过 30%,实验重复 3 次,连续数次疗效稳定,而且有统计学意义,可评定药物有一定抑制肿瘤的效果。本研究结果显示,六月青多糖各剂量肿瘤质量明显减轻,其中高剂量抑瘤率 > 30%,实验复重 3 次,结果基本一致,由此评定六月青多糖对 S180 移植瘤有一定抑制作用,且随药物浓度增加抑瘤作用加强,呈明显的剂量依赖性。

胸腺和脾脏的脏器系数是衡量机体免疫功能的初步指标<sup>[8]</sup>。本实验结果显示,六月青多糖各剂量能明显增高 S180 荷瘤小鼠的胸腺系数,高、中剂量能明显增高 S180 荷瘤小鼠的脾脏系数,说明六月青

# 参附强心对腹主动脉缩窄大鼠心肌细胞 Bcl-2 表达 及抗心衰作用机制研究

王蕾\*, 江永萍<sup>2</sup>, 康利<sup>1</sup>, 刘彤<sup>2</sup>, 袁玲<sup>1</sup>, 邵凤<sup>2</sup>, 陈卫平<sup>1</sup>

(1. 天津市医药科学研究所, 天津 300020;

2. 天津中新药业集团股份有限公司达仁堂制药厂, 天津 300457)

**[摘要]** 目的:探讨参附强心对腹主动脉缩窄慢性心衰大鼠(CHF)心肌细胞 Bcl-2 表达的影响及其抗心衰机制。方法:选用 Wistar 雄性大鼠行腹主动脉缩窄法制备 CHF 模型,按照体重随机分为模型对照组、卡托普利阳性对照组、参附强心(按生药量计)2.14,1.07,0.54 g·kg<sup>-1</sup>剂量组,术后灌胃给药 8 周。通过生物信号采集系统,经心室插管测定心室压力;描记肢体 II 导联心电图(EKG);观察神经内分泌激素、心肌细胞凋亡和 Masson 染色心肌纤维化,探讨参附强心对慢性心衰治疗作用机制。结果:本实验成功复制大鼠慢性心衰模型,与假手术对照组比较,模型对照组左室内压峰值(LVSP)、左室内压最大上升速率(+dp/dt<sub>max</sub>)、左室内压最大下降速率(-dp/dt<sub>max</sub>)明显降低(P<0.05 或 P<0.001),表明心室收缩功能降低;左心室舒张末压(LVEDP)明显升高(P<0.001),表明舒张功能不全;心电图显示 ST 段上抬(P<0.05),QRS 时限延长(P<0.05);血浆血管紧张素 II(AngII)和醛固酮(ALD)均明显升高(P<0.01, P<0.01);心肌 HE 染色可见心肌细胞病变;Bcl-2 阳性表达下调(P<0.001),片状或小灶状纤维化病变。参附强心 2.14 g·kg<sup>-1</sup>灌胃 8 周可明显改善心衰大鼠心室收缩功能,使 +dp/dt<sub>max</sub>, -dp/dt<sub>max</sub>明显升高(P<0.01, P<0.05),改善心脏舒张功能,使 LVEDP 明显回落(P<0.001);改善心电图 ST 段的异常抬高(P<0.05);降低血浆 AngII, ALD 含量。HE 染色可见参附强心对心肌细胞结构的改善,使着色均匀、排列规整。可上调心衰大鼠心肌中抗凋亡基因 Bcl-2 的表达,并能改善病变心肌纤维化程度,从而起到控制心衰病变发展的作用。结论:腹主动脉缩窄法可成功制备大鼠后负荷加重心衰模型。参附强心可有效改善心衰大鼠血流动力学、上调心肌 Bcl-2 表达,抑制心肌纤维化和心室重构。

**[关键词]** 参附强心; 腹主动脉缩窄; 大鼠慢性心力衰竭; 心肌细胞凋亡; Bcl-2 表达; 心肌纤维化

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)04-0254-05

**[收稿日期]** 20120626(010)

**[通讯作者]** \* 王蕾, 硕士, 助理研究员, 从事药理研究, Tel:13820803501, E-mail: zws9905@sina.com

- [5] 莫国艳, 黄仁彬, 林军, 等. 六月青萃取物对免疫抑制小鼠的影响[J]. 医药导报, 2007, 26(11):1264.
- [6] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 3 版, 北京:人民卫生出版社, 2002:1762.
- [7] Sinierope F A, Ruan S B, Cleary K R, et al. Bcl-2 and p53 oncoproteins expression during colorectal tumorigenesis[J]. Cancer Res, 1995, 55(2):237.
- [8] 卢金福, 邵家德, 杜萍, 等. 灵仙通络丸对大鼠佐剂关节炎及小鼠 DTH 反应的影响[J]. 南京中医药大学学报, 2004, 20(4):223.
- [9] Zhou G, Sheng W, Yao W, et al. Effect of low molecular lambda-carrageenan from Chondrus ocellatus on antitumor H-22 activity of 5-Fu[J]. Pharmacol Res, 2006, 53(2):29.
- [10] 罗珍, 黄萍, 郭重仪, 等. 猴头菇多糖增强免疫功能  
的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(4):182.
- [11] Reed J C. Double identity for proteins of the Bcl-2 family [J]. Nature, 1997, 387(6635):773.
- [12] Oltvai Z N, Korsmeyer S J. Checkpoints of dueling dimers foil death wishes [J]. Cell, 1994, 79(2):189.
- [13] Vogelbaum M A, Tong J X, Higashikubo R, et al. Transfection of C6 glioma cells with the Bax gene and increased sensitivity to treatment with cytosine arabinoside [J]. J Neurosurg, 1998, 88(1):99.
- [14] 王恩军, 靳祎, 王哲, 等. 山茱萸多糖诱导宫颈癌细胞凋亡及 Bax 蛋白表达的变化 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(10):260.

[责任编辑 聂淑琴]