

# 星菱承气汤和补阳还五汤对脑缺血大鼠 细胞凋亡 Fas/FasI 和 Caspase-3 调控的影响

刘敬霞<sup>1\*</sup>, 李建生<sup>2</sup>, 俞维<sup>1</sup>, 黑常春<sup>1</sup>, 刘会贤<sup>1</sup>, 任非非<sup>1</sup>

(1. 宁夏医科大学中医学学院, 银川 750004; 2. 河南中医学院老年医学研究所, 郑州 450008)

**[摘要]** 目的: 观察星菱承气汤和补阳还五汤对脑缺血神经细胞凋亡 Fas/FasI 和 Caspase-3 的影响, 以明确其阻抑神经细胞凋亡的机制。方法: 大鼠随机分为假手术组、模型组、尼莫地平组、星菱承气汤和补阳还五汤组; 线栓法制备大鼠中动脉阻塞模型; 星菱承气汤(5.0 g·kg<sup>-1</sup>)、补阳还五汤(13.0 g·kg<sup>-1</sup>)、尼莫地平(10.8 mg·kg<sup>-1</sup>) 组大鼠分别于造模前 4 d 灌胃, 造模后每日 1 次; 缺血后 1, 3, 7 d 取大鼠脑组织, 免疫组织化学法检测 Fas, FasI, Caspase-3 表达。结果: 假手术组大鼠可见少许 Fas(16.60 ± 1.36), FasI(19.40 ± 1.72) 和 Caspase-3(16.35 ± 1.63) 表达; 大鼠缺血后 1, 3, 7 d 的 Fas(45.83 ± 1.44, 36.25 ± 1.60, 31.37 ± 2.27), FasI(44.27 ± 2.25, 37.68 ± 2.01, 34.15 ± 1.55) 和 Caspase-3(37.18 ± 2.78, 29.50 ± 2.07, 25.26 ± 3.04) 表达均增强(P < 0.01); 与模型组比较, 各药组 Fas, FasI 表达减弱, 尼莫地平组缺血后 1 d, 星菱承气汤和补阳还五汤各组 Caspase-3 表达减弱; 各星菱承气汤和补阳还五汤组 7 d 的 Fas, FasI 表达、星菱承气汤组 3 d 的 Caspase-3 表达均较尼莫地平组减弱; 星菱承气汤组缺血后 1 d 的 Fas 和 FasI, 3 d 的 Fas 和 Caspase-3 表达均较补阳还五汤组减弱。结论: 脑缺血可引起细胞凋亡 Fas/FasI 调控的表达上调, 星菱承气汤和补阳还五汤可下调 Fas/FasI 及 Caspase-3 表达, 星菱承气汤阻抑 Fas 和 FasI 及 Caspase-3 的作用较补阳还五汤早而显著, 以缺血后 1 d 的调控作用最为明显。

**[关键词]** 脑缺血; 补阳还五汤; 星菱承气汤; 细胞凋亡; Fas/FasI; Caspase-3

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)23-0187-05

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20121012.0936.028.html>

**[网络出版时间]** 2012-10-12 9:36

## Effects of Xinglou Chengqi Decoction and Buyang Huanwu Decoction on Fas/FasI and Caspase-3 Pathway of Apoptosis in Rats with Cerebral Ischemia

LIU Jing-xia<sup>1\*</sup>, LI Jian-sheng<sup>2</sup>, YU Wei<sup>1</sup>, HEI Chang-chun<sup>1</sup>, LIU Hui-xian<sup>1</sup>, REN Fei-fei<sup>1</sup>

(1. Traditional Chinese Medicine (TCM) School of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China;  
2. Geriatrics Institute of Henan College of TCM, Zhengzhou 450008, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the effects and mechanism of Xinglou Chengqi decoction (XLCQD) and Buyang Huanwu decoction (BYHWD) on Fas/FasI and Caspase-3 of regulating genes of neurons apoptosis caused by cerebral ischemia. **Method:** Rats were randomly divided into sham, model, Nimodipine, BYHWD and XLCQD groups. Focal cerebral ischemia models were established by middle cerebral artery occlusion with nylon thread. Rats were given with XLCQD (5.0 g·kg<sup>-1</sup>), BYHWD (13.0 g·kg<sup>-1</sup>) and nimodipine (10.8 mg·kg<sup>-1</sup>) by ig before the model preparation, once a day after the operation. At 1, 3, 7 d after operation, neurons apoptosis, expressions of Fas, FasI and Caspase-3 were determined using the method of immunohistochemistry. **Result:** A few expressions of Fas (16.60 ± 1.36), FasI (19.40 ± 1.72) and Caspase-3 (16.35 ± 1.63) could be observed in rat's brain of sham group. In each model group, expressions of Fas (45.83 ± 1.44, 36.25 ±

**[收稿日期]** 20120502(002)

**[基金项目]** 宁夏医科大学特殊人才项目(NT2009-11)

**[通讯作者]** \*刘敬霞, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 从事中医药防治脑血管疾病的临床和实验研究, Tel: 13519216687, E-mail: ljx199566@163.com

1.60,  $31.37 \pm 2.27$ ), FasI ( $44.27 \pm 2.25$ ,  $37.68 \pm 2.01$ ,  $34.15 \pm 1.55$ ), Caspase-3 ( $37.18 \pm 2.78$ ,  $29.50 \pm 2.07$ ,  $25.26 \pm 3.04$ ) all increased ( $P < 0.01$ ). Fas and FasI expression in each administrated group all decreased, and the expression of Caspase-3 in Nimodipine 1 d group, each XLCQD and BYHWD group was higher. Fas and FasI expressions in each XLCQD group and 7 d BYHWD group and Caspase-3 in 3 d XLCQD group all decreased than that in Nimodipine groups. The expressions of Fas in 1 d and 3 d, FasI in 1d, Caspase-3 in 3 d XLCQD groups all decreased than that in BYHWD groups. **Conclusion:** It was shown that Fas/FasI up-regulation of apoptosis could be caused by cerebral ischemia, and XLCQD and BYHWD could all inhibit the level of Fas, FasI and Caspase-3. The role of XLCQD was more earlier and significant in down-regulating the expressions of Fas, FasI and Caspase-3, especially at 1d after cerebral ischemia.

[**Key words**] cerebral ischemia; Buyang Huanwu decoction; Xinglou Chengqi Tang; Fas/FasI; Caspase-3

神经细胞凋亡是脑缺血引起神经元坏死的重要形式,凋亡神经细胞的多少决定着梗死面积的最终大小,是梗死灶发展的关键,抑制这一病理环节对减轻脑损伤和保护脑功能具有重要意义<sup>[1-2]</sup>。中医药在抑制神经细胞凋亡方面开展的研究较多,有学者对治疗中风的经典方剂进行研究,发现不同治法均可通过抗细胞凋亡而保护脑组织受损<sup>[3-5]</sup>。前期研究发现,化痰通腑和益气活血法的阻抑神经细胞凋亡的作用时间和特点存在差异(另文发表),本实验拟从其对脑缺血最重要的促凋亡基因之一 Fas 及其配体 FasI 以及最终引起靶细胞死的 Caspase-3 蛋白的影响进行研究,以明确其阻抑细胞凋亡可能的作用机制和特点。

## 1 材料

**1.1 动物** SD 大鼠,SPF 级,雌雄各半,154 只,3~4 月, ( $300 \pm 50$ )g;由宁夏医科大学实验动物中心提供;所有大鼠在同一动物房中饲养,温度( $25 \pm 1$ ) $^{\circ}\text{C}$ ,湿度( $50 \pm 10$ )%,光暗周期 12 h/12 h,自由进食和饮水;常规环境适应性饲养 7 d 后进行实验。

**1.2 仪器** 电子天平(JA1203,上海精科天平仪器厂),超低温冰箱(MDF-38E2 型,日本三洋公司),套式恒温器(TC-15 型,浙江海宁新华医疗器械厂),电热水浴恒温箱(DK-600A 型,上海一恒科技公司),电热恒温烤箱(K24-006 型,上海跃进医疗器厂),微波炉(MS-2578T 型, LG 天津电器公司),高清晰度彩色图像分析系统 Image-proplus5.1 (Medla Cybernetics Inc, USA, 型号 41N5100-44800)。

**1.3 试剂** 兔抗大鼠 Fas 抗体(1:100, BA0048), FasI 抗体(1:100, BA0049), Caspase-3 抗体(1:100, BA2142),羊抗大鼠 IgG-生物素(BA1005)(武汉博士德生物工程有限公司),柠檬酸盐缓冲液(AR0024)、正常山羊血清封闭液(AR0009)、DAB 显色试剂盒(AR1022)均购于武汉博士德生物工程

有限公司。

## 1.4 药物

**1.4.1 尼莫地平片** (山东新华制药股份有限公司)规格 20mg;将药物研细,临用前加蒸馏水配成  $1.08 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  的混悬液。

**1.4.2 星蒺承气汤方** 出自《临床中医内科学》,方药组成为全瓜蒌 30 g,胆南星 6 g,生大黄 9 g,芒硝 9 g,生药总量 54 g;方中所用生药材去除杂质,切制后,按组方剂量配比,各药(芒硝除外)分别加入生药材 10 倍量的水,浸泡 60 min 后用 TC-15 套式恒温器 250 V 电压加热煎煮;全瓜蒌、胆南星、先煎 0.5 h,再下生大黄 9 g,沸腾后将电压调低至 150 V,保持微沸状态煎煮 30 min,滤取煎液,冲溶芒硝 9 g;药渣再加入生药材 8 倍量的水,浸泡 30 min 后煎煮,保持微沸状态煎煮 30 min,滤取煎液;合并两次煎液,将药液于恒温水浴锅( $100^{\circ}\text{C}$ )蒸发水分至浓稠状,浓缩至药液含生药  $1.0 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $4^{\circ}\text{C}$  保存备用;临用前加蒸馏水稀释至生药材含量为  $0.5 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

**1.4.3 补阳还五汤方** 出自《医林改错》,方药组成为生黄芪 120 g,归尾 6 g,地龙 6 g,川芎 3 g,桃仁 3 g,红花 3 g,生药总量 141 g;方中所用生药材去除杂质,切制后,按组方剂量配比,加入生药材 10 倍量的水,浸泡 60 min 后用 TC-15 套式恒温器 250 V 电压加热煎煮;沸腾后将电压调低至 150 V,保持微沸状态煎煮 30 min,滤取煎液;药渣再加入生药材 8 倍量的水,浸泡 30 min 后煎煮,保持微沸状态煎煮 30 min,滤取煎液;合并两次煎液,将药液于恒温水浴锅( $100^{\circ}\text{C}$ )蒸发水分至浓稠状,浓缩至药液含生药  $2.6 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $4^{\circ}\text{C}$  保存备用;临用前加蒸馏水稀释至生药材含量为  $1.3 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

## 2 方法

**2.1 分组与用药** 大鼠按随机数字表法分组:假手术组模型组、尼莫地平组、星蒺承气汤组、补阳还五

汤组;其中后4组根据术后分批取材的时间点又各分为1,3,7 d组。假手术组10只大鼠;4个手术组各时间点12只。假手术组、模型组于造模前4 d用蒸馏水 ig,药物组分别用蒸馏水制备的悬浮液 ig,其中尼莫地平  $10.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,星菱承气汤  $5.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,补阳还五汤  $13.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,大鼠 ig 容积为  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ,每天1次,造模前加 ig 1次,术后每日 ig 1次,直至取材。各组大鼠均于术前禁食12 h,不禁水。

**2.2 模型制备** 参照改良的 Longa 法用线栓阻塞大鼠大脑中动脉制备局灶性脑缺血动物模型(MCAO)。10%水合氯醛 ip 麻醉大鼠,待完全麻醉后,仰卧位固定大鼠,颈前正中切口,左侧钝性分离颈总动脉(CCA);分离颈内外动脉,穿线备用,结扎翼腭动脉,于颈外动脉近动脉分叉处剪口,栓线穿入颈内动脉,缓慢推进,直至感觉有阻力为止,穿线成功后缝合皮肤;假手术组不穿入栓线外,其余操作相同。手术过程中保持大鼠肛温( $37.0 \pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$ ,保持室温( $26 \pm 1$ ) $^{\circ}\text{C}$ 。术后注射青霉素钠( $10 \text{ 万 u} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),每天1次,以防感染。

**2.3 取材及标本处理** 假手术组大鼠术后7 d取材,其余各组分别于术后1,3,7 d进行神经功能评测;麻醉大鼠,4%多聚甲醛溶液经升主动脉进行灌注固定,取出全脑,4 $^{\circ}\text{C}$ 生理盐水冲洗3遍,除去积血,滤纸吸去表面水分,去除嗅球、小脑和脑干。冰盘上迅速分离大脑半球,弃去右侧,取左侧半球液氮冷存,待测指标。

## 2.4 指标检测和分析

**2.4.1 Fas 和 Fasl 及 Caspase-3 表达检测** 分别于脑缺血再灌注1,3,7 d,用4%多聚甲醛磷酸盐缓冲液经左心室插管灌流固定大脑后,常规包埋、制作脑部冠状切片。采用免疫组织化学法观察 Fas, Fasl 和 Caspase-3 表达。严格按试剂盒说明进行操作。

**2.4.2 Fas 和 Fasl 及 Caspase-3 图像采集与分析** 光学显微镜观察、照相,阳性反应细胞的胞质为棕黄色,图像分析系统进行图像采集(显微镜  $20 \times 10$  倍);随即选取缺血侧皮层5个视野;每组观察6张切片,合计30个视野;每幅图像采用盲法进行分析测量,设定图像分析系统的最大灰度份极为( $C_{\text{max}}$ )256,最大吸光度( $A_{\text{max}}$ )为2,测定阳性表达的面积密度(Area)和平均吸光度(A),计算整合吸光度(IA),计算公式: $IA = \text{Area} \times A(\text{mean})$ ;以每视野阳性细胞的整合吸光度进行数据统计;阳性细胞个数越多、阳性反应的 IA 越大,表示反应越强。

**2.4.3 统计学处理** 用 SPSS 15.0 统计分析软件。计量资料进行正态分布检验,符合正态分布者采用单因素方差分析,不符合正态分布者进行数据转化后比较,结果以  $\bar{x} \pm s$  表示。显著性水准取  $\alpha = 0.05$ 。

## 3 结果

**3.1 神经元 Fas, Fasl 表达变化** 假手术组大鼠皮层神经细胞可见少许 Fas 阳性细胞;模型组 Fas, Fasl 阳性细胞呈棕黄色,各组 Fas, Fasl 阳性表达明显高于假手术组( $P < 0.01$ );用药各组均较模型组表达减弱;各星菱承气汤组和补阳还五汤组3,7 d的 Fas 阳性表达较尼莫地平组减弱,7 d的 Fasl 阳性表达较尼莫地平组减弱;星菱承气汤组1 d Fas, Fasl 表达及3 d的 Fas 表达较补阳还五汤减弱;每组不同时间点比较,各组3,7 d分别较其1 d Fas 和 Fasl 表达显著减弱( $P < 0.01$ ),7 d较3 d的 Fas 和 Fasl 表达显著减弱( $P < 0.01$ )。见表1。

表1 各组大鼠神经细胞 Fas 和 Fasl 阳性表达比较( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	时间/d	Fas/IA/视野	Fasl/IA/视野
假手术	-	7	$16.60 \pm 1.36$	$19.40 \pm 1.72$
模型	-	1	$45.83 \pm 1.44^{1,8)}$	$44.27 \pm 2.25^{1,8)}$
		3	$36.25 \pm 1.60^{1)}$	$37.68 \pm 2.01^{1)}$
		7	$31.37 \pm 2.27^{1,8)}$	$34.15 \pm 1.55^{1,8)}$
尼莫地平	$10.8 \times 10^{-3}$	1	$38.05 \pm 1.08^{2,8)}$	$39.73 \pm 1.47^{2,8)}$
		3	$33.69 \pm 1.29^{2)}$	$35.09 \pm 1.98^{2)}$
		7	$28.91 \pm 1.55^{2,8)}$	$30.45 \pm 1.64^{2,8)}$
星菱承气汤	5.0	1	$34.96 \pm 2.13^{2,4,8)}$	$36.18 \pm 1.90^{2,4,8)}$
		3	$29.84 \pm 1.22^{2,4)}$	$31.24 \pm 1.35^{2,4)}$
		7	$27.09 \pm 1.77^{2,5)}$	$28.41 \pm 1.49^{2,5)}$
补阳还五汤	13.0	1	$38.56 \pm 1.80^{2,6,8)}$	$38.86 \pm 1.88^{2,6,8)}$
		3	$31.82 \pm 1.41^{2,5,7)}$	$33.19 \pm 1.12^{2)}$
		7	$27.29 \pm 1.87^{2,5,8)}$	$28.43 \pm 1.13^{2,5,8)}$

注:与假手术组比较<sup>1)</sup> $P < 0.01$ ;各用药组与相应时间点模型组比较<sup>2)</sup> $P < 0.01$ ,<sup>3)</sup> $P < 0.05$ ;中药组与尼莫地平组比较<sup>4)</sup> $P < 0.01$ ,<sup>5)</sup> $P < 0.05$ ;补阳还五汤组与星菱承气汤组比较<sup>6)</sup> $P < 0.01$ ,<sup>7)</sup> $P < 0.05$ ;与同组别3 d组比较<sup>8)</sup> $P < 0.01$ (表2同)。

**3.2 Fas/Fasl 变化** 假手术组大鼠神经元 Fas 阳性表达弱于 Fasl,  $Fas/Fasl < 1$ ;模型组大鼠的 Fas/Fasl 均较假手术组明显增大( $P < 0.01$ );尼莫地平和补阳还五汤组1 d的 Fas/Fasl 较模型组减小;模型组3,7 d较其1 d的 Fas/Fasl 减小明显。见表2。

**3.3 神经元 Caspase-3 表达变化** 假手术组大鼠皮层神经细胞可见少许 Caspase-3 阳性细胞;模型组大鼠 Caspase-3 阳性细胞呈棕黄色,各组 Caspase-3 阳

性表达均较假手术组明显增强 ( $P < 0.01$ ) ; 与模型组比较, 尼莫地平组 1 d、星萎承气汤和补阳还五汤各组的阳性表达减弱; 星萎承气汤组 3 d 的 Caspase-3 阳性表达较尼莫地平组明显减弱; 星萎承气汤组 3 d 的表达较补阳还五汤组减弱; 每组不同时间点比较, 各组 7, 3 d 分别较其 1 d 的 Caspase-3 表达均显著减弱, 7 d 较 3 d 的 Caspase-3 表达均显著减弱 ( $P < 0.01$ )。见表 2。

表 2 各组大鼠 Fas 和 FasI 比值及 Caspase-3 表达变化比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	时间/d	Fas/FasI	Caspase-3 /IA/视野
假手术	-	7	0.86 ± 0.06	16.35 ± 1.63
模型	-	1	1.02 ± 0.06 <sup>1,8)</sup>	37.18 ± 2.78 <sup>1,8)</sup>
		3	0.96 ± 0.06 <sup>1)</sup>	29.50 ± 2.07 <sup>1)</sup>
		7	0.92 ± 0.09 <sup>1,8)</sup>	25.26 ± 3.04 <sup>1,8)</sup>
尼莫地平	10.8 × 10 <sup>-3</sup>	1	0.96 ± 0.02 <sup>3)</sup>	31.56 ± 3.73 <sup>2,8)</sup>
		3	0.96 ± 0.03	27.57 ± 1.58
		7	0.95 ± 0.03	24.88 ± 1.61 <sup>8)</sup>
星萎承气汤	5.0	1	0.97 ± 0.02 <sup>3)</sup>	30.69 ± 2.75 <sup>2,8)</sup>
		3	0.96 ± 0.03	23.43 ± 1.53 <sup>2)</sup>
		7	0.95 ± 0.03	21.13 ± 1.26 <sup>2)</sup>
补阳还五汤	13.0	1	0.99 ± 0.05	32.05 ± 2.15 <sup>2,8)</sup>
		3	0.96 ± 0.02	28.17 ± 1.84 <sup>2,6)</sup>
		7	0.96 ± 0.05	22.50 ± 1.40 <sup>3,8)</sup>

#### 4 讨论

脑缺血引起的神经细胞坏死是一个不可逆的过程, 目前尚无法干预, 但细胞凋亡是受一系列程序调控的过程, 可通过早期干预而加以挽救。细胞凋亡的发生是复杂的多基因、多系统调控, 其中 Fas 和 FasI 系统是细胞凋亡最重要的途径之一, FasI 与 Fas 两者结合, 使 Fas 死亡区交联, 产生神经酰胺, 通过激活内源性核酸内切酶, 引起细胞凋亡, 并向细胞内传递死亡信号, 数小时内导致细胞死亡, 抑制促凋亡蛋白 Fas/FasI 的合成可发挥神经保护作用<sup>[6-8]</sup>。此外, Caspase-3 是细胞凋亡的敏感指标, 被认为是细胞凋亡蛋白酶级联反应最关键的执行者, 在各种因素启动的凋亡程序中起最后枢纽作用, 阻抑 Caspase-3 表达对阻止脑损伤的进一步恶化和改善神经功能具有重要意义。有研究发现, 干预脑缺血后 Fas 和 FasI 凋亡调控系统将可能阻抑 Caspase-3 启动和激活而发挥抗细胞凋亡作用<sup>[9-10]</sup>。中风不同

治法在不同时间位点上均可阻断脑缺血再灌注后的细胞凋亡, 活血化瘀可通过抑制 Fas/FasI 信号转导通路的相关调控基因 Fas, FasI, FADD, Caspase-3, TNF- $\gamma$ , c-myc, p53 Bax 蛋白的表达和 Fas mRNA 的表达, 促进 HSP70 Bcl-2 蛋白的表达, 调节 Fas/FasI 信号转导通路相关调控基因, 进而抑制神经细胞凋亡<sup>[11-12]</sup>, 但中医治法针对的病因病机不同, 其抑制脑缺血神经细胞凋亡的作用途径和特点可能存在差异。本研究发现, 脑缺血可引起细胞凋亡 Fas/FasI 调控系统的表达上调, 并可能进一步启动 Caspase-3 (凋亡关键酶蛋白) 表达; Fas 和 FasI 及 Caspase-3 表达随缺血时间的延长而逐渐减弱, 这与已有的报道一致<sup>[13-15]</sup>; 结果表明, 化痰通腑和益气活血法均可下调 Fas/FasI 及 Caspase-3 表达, 但二者作用的时间和强度存在差异, 化痰通腑法阻抑 Fas 和 FasI 及 Caspase-3 的作用较益气活血法早而显著, 其调节 Fas/FasI 凋亡调控系统的作用以缺血后 1 d 最为明显。针对脑缺血后邪实正虚的病机变化, 星萎承气汤重在通腑化痰, 以祛邪为主; 补阳还五汤具有益气活血作用, 一在祛邪, 一在扶正。认为脑缺血后引起细胞凋亡调控基因中促凋亡基因的高表达过程以邪实为主, 通腑化痰治疗可以通过祛邪以下调其表达, 从而阻抑神经细胞凋亡, 而发挥脑保护作用; 补阳还五汤可通过活血下调促凋亡基因 Fas/FasI 及 Caspase-3 表达, 但其作用较星萎承气汤减弱。本实验可以为明确化痰通腑和益气活血法保护神经功能的作用机制和特点提供依据, 并可为进一步的研究奠定基础。

#### [参考文献]

[1] Ozkan O V, Yuzbasioglu M F, Ciralik H, et al. Resveratrol, a natural antioxidant, attenuates intestinal ischemia/reperfusion injury in rats [J]. Tohoku J Exp Med, 2009, 218(3):251.

[2] Dong W, Li N, Gao D, Zhen H, et al. Resveratrol attenuates ischemic brain damage in the delayed phase after stroke and induces messenger RNA and protein express for angiogenic factors [J]. J Vasc Surg, 2008, 48(3):709.

[3] 李净, 李小亮, 胡建鹏, 等. 三种中医治法对脑缺血再灌注大鼠神经细胞凋亡影响的动态研究 [J]. 中国中医药科技, 2008, 15(5):321.

[4] 高红莉, 刘昭纯, 曲晓兰. 活血熄风方对局灶性脑缺血大鼠神经细胞凋亡及基因蛋白表达的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(3):74.

# 通心络对异丙肾上腺素诱导的 H9c2 心肌细胞肥大及 Cx43mRNA 表达的影响

杨军, 丁赛良\*, 邓彪, 王光辉, 张勇, 王苏燕, 邝宇  
( 南华大学附属第一医院心内科, 湖南 衡阳 421001 )

**[摘要]** 目的: 观察通心络(Tongxinluo, TXL)超细干粉水提物对异丙肾上腺素(isoproterenol, Iso)诱导的 H9c2 心肌细胞肥大的作用, 并探讨其对缝隙连接蛋白 43(connexin 43, Cx43)mRNA 表达的影响。方法: 将培养的 H9c2 心肌细胞随机分为对照组、TXL 组、Iso 组和 Iso + TXL 组, 通心络以通心络超细干粉水提物的形式加入, 使用异丙肾上腺素诱导 72 h 后, 采用相差显微镜测量细胞大小, BCA 法测定蛋白浓度, 运用逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR)测定 Cx43mRNA 的表达。结果: Iso 刺激 H9c2 心肌细胞 72 h 后, Iso 组细胞直径增大, 高于对照组( $P < 0.05$ ); 通心络对正常 H9c2 心肌细胞直径无明显影响, 但能抑制 Iso 诱导的细胞直径增大( $P < 0.05$ )。Iso 组蛋白浓度明显升高, 高于对照组( $P < 0.05$ ); 通心络对正常 H9c2 心肌细胞蛋白浓度无明显影响, 但能抑制 Iso 诱导的蛋白浓度的升高( $P < 0.05$ )。Iso 组 Cx43mRNA 表达明显减少, 低于对照组( $P < 0.05$ ); 通心络对正常 H9c2 心肌细胞 Cx43mRNA 表达无影响, 但能够抑制 Iso 诱导的 Cx43 mRNA 表达的下调( $P < 0.05$ )。结论: 通心络可以抑制 Iso 诱导的 H9c2 心肌细胞肥大及 Cx43mRNA 表达的下调。

**[关键词]** 通心络; 心肌肥大; H9c2 心肌细胞; 连接蛋白 43; 异丙肾上腺素

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)23-0191-04

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20121012.0934.023.html>

**[网络出版时间]** 2012-10-12 9:34

**[收稿日期]** 20120416(002)

**[基金项目]** 湖南省科技厅重点课题项目(2009SK2010); 湖南省自然科学基金重点项目(11JJ2046)

**[第一作者]** 杨军, 副教授, 博士, 从事中西医结合心血管病防治研究, E-mail: yangjunincn@163.com

**[通讯作者]** \* 丁赛良, 硕士研究生在读, 从事中西医结合冠心病治疗研究, Tel: 18773488787, E-mail: dingsailiang@163.com

- [ 5 ] 王斌, 孙建宁, 石任冰, 等. 清脑宣窍滴丸对大鼠急性脑缺血再灌注损伤保护作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(13): 151.
- [ 6 ] 刘勇, 胡明均, 何国厚. Fas/FasL 的高表达在缺血性脑损伤中的意义[J]. 中国临床康复, 2003, 7(31): 4184.
- [ 7 ] 先雄斌, 袁琼兰. Caspase-3 与脑缺血再灌注后神经元凋亡[J]. 海南医学, 2008, 19(8): 150.
- [ 8 ] 胡跃强, 胡国恒, 龙华君, 等. 清热化痰方提取物预处理对大鼠脑缺血耐受作用及 Fas/FasL 表达的影响[J]. 辽宁中医药大学学报, 2008, 10(8): 153.
- [ 9 ] Siesj B K. Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia. Part I: Pathophysiology. (1992) [J]. J Neurosurg, 2008, 108(3): 616.
- [ 10 ] 任俊伟, 杨琴, 陈娜, 等. 白藜芦醇对脑缺血再灌注后细胞凋亡及 Caspase-3 表达的影响[J]. 中成药, 2011, 33(4): 570.
- [ 11 ] 白文婷. 巴曲酶对大鼠脑缺血再灌注 Fas 基因和 FasL 基因表达变化的影响[J]. 卒中与神经疾病, 2011, 18(3): 173.
- [ 12 ] 宋建立, 方川, 王佳良, 等. 活血法配合西医治疗重型颅脑损伤昏迷的临床观察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(1): 131.
- [ 13 ] 赖真, 李丽珊, 程少冰. 黄芪加红花对脑缺血再灌注后神经细胞凋亡及半胱氨酸蛋白酶-3 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(2): 45.
- [ 14 ] 毛焯, 刘丽, 王冬雪. 参芎注射液对脑缺血再灌注损伤大鼠 Fas、FasL 蛋白表达的影响[J]. 黑龙江医学, 2008, 32(8): 580.
- [ 15 ] 贾士奇, 王军, 张红霞, 等. 生姜对局灶性脑缺血大鼠海马神经细胞凋亡及相关蛋白表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(3): 163.

[责任编辑 聂淑琴]