

· 综述 ·

## 中药在心肌细胞钙信号转导通路研究进展

陈钰<sup>1,2</sup>, 刘晓秋<sup>2</sup>, 郭丽丽<sup>1</sup>, 邢雁伟<sup>1\*</sup>

(1. 中国中医科学院广安门医院, 北京 100053; 2. 沈阳药科大学中药学院, 沈阳 110016)

**[摘要]** 对作用于心肌细胞钙信号转导通路的中药研究进行了文献分析和整理。迄今,越来越多的中药被用于临床心血管心律失常疾病的预防和治疗,而运用钙离子通道与相关的蛋白受体相结合的方法研究抗心律失常药物的作用机制已成为热点。以钙通道、中药、膜片钳等为主题词检索了 MEDLINE 和 CNKI 数据库,选取了最新并具有代表性文献 21 篇,总结了中药对心肌细胞钙信号转导通路作用研究的新进展。从中药对心肌细胞钙通道和钙信号转导通路相关蛋白受体这两个方面进行了综述,同时提出当前研究中存在的问题,并对未来的发展进行展望,为今后的研究提供新的思路和实验依据。

**[关键词]** 心肌细胞; 钙通道; 钙信号转导通路; 膜片钳技术

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)18-0319-04

### Present Status on Effects of Traditional Chinese Medicine on Calcium Channels and Signal Transduction Pathway of Myocardial Cells

CHEN Yu<sup>1,2</sup>, LIU Xiao-qiu<sup>2</sup>, GUO Li-li<sup>1</sup>, XING Yan-wei<sup>1\*</sup>

(1. Department of Cardiology, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China; 2. School of Traditional Chinese Medicine, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

**[Abstract]** To analyze and review on the literature about the research of traditional Chinese medicine that acting on calcium signal transduction pathways of myocardial cell. So far, more and more traditional Chinese medicine used in the prevention and treatment of clinical cardiovascular arrhythmia disease, and the method which to combine calcium ion channels and related receptor to research the mechanism of anti-arrhythmic drugs has become a hot spot. 21 latest and representative references was searched and chosen from the MEDLINE and CNKI database using calcium channel, traditional Chinese medicine and patch clamp technique etc. as keywords, then summarizes the new progress on the research of traditional Chinese medicine that acting on calcium signal transduction pathways of myocardial cell. This paper reviews lately research status about effects of Chinese herbs on calcium channels and related protein receptors of calcium signal transduction pathways of myocardial cells, and states some problems existing in current research, and looks ahead the future study to provide new ideas and experimental basis.

**[Key words]** myocardial cells; calcium channel; signal transduction pathway; patch clamp technique

钙信号转导通路相关蛋白表达及离子通道调节机制在心血管疾病心律失常、心肌肥厚和心力衰竭中起着桥梁纽带的作用,使这些疾病的发展互为因果。既往对肥厚(心衰)

心律失常的研究局限于离子通道,但近期钙离子通道与相关的蛋白受体相结合已成为研究的热点。钙信号转导通路相关蛋白表达及离子通道非常复杂,大量的活性物质从基因水

**[收稿日期]** 20120323(009)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81001514);北京市科技新星计划项目(2011110)

**[第一作者]** 陈钰,硕士,从事心脏电生理药理学研究, Tel:18810513394, E-mail:181967453@qq.com

**[通讯作者]** \*邢雁伟,博士后,副主任医师,从事心脏电生理学, Tel:13161508096, E-mail:xingyanwei12345@163.com

平、蛋白水平、翻译后水平等多层次、多角度发挥调节作用。膜片钳技术与分子克隆、基因突变以及计算机技术相结合,提高了抗心律失常药物的研发速度。近些年,运用膜片钳结合激光共聚焦方法,同时刻研究中药复方对膜钙通道和胞内钙离子的活动,同步观察细胞电学变化过程中细胞内物质的变化,观察细胞膜电流变化与通道蛋白组成的变化,阐释信号与物质、结构变化的内在关系,是处于世界前沿的研究领域。将钙离子通道与相关的蛋白受体相结合的方法研究抗心律失常药物的作用机制,更具有全面性和说服力。

中药对心肌细胞钙通道作用研究已深入到中药的有效成分,近些年对中药复方的研究也开始加深。中医中药治疗疾病多以复方为主,复方的研究虽然比较复杂,但是有着重大的意义。将单味药、单体有效成分、有效部位及复方相结合研究,从整体电生理到单个心肌细胞膜片钳全面系统地对某一有效成分进行电生理作用的基础研究,提高中药研究的科学性、系统性,为相关临床应用和中药研发提供理论依据,对促进传统医学现代化大有裨益。

本文就近年来中药对心肌细胞钙通道及钙信号转导通路相关蛋白作用的研究现状进行介绍。

## 1 中药对心肌细胞钙通道影响

### 1.1 中药单体或有效部位

**1.1.1 芍药苷** 中药单体成分芍药苷对多种离子通道都有作用,有研究证实<sup>[1]</sup>,芍药苷使 L-型钙电流(ICA-L)峰值减少,药物能使稳态激活曲线向正向移动,而对稳态失活曲线和时间恢复曲线没有影响。因此实验表明,芍药苷能阻断 L-型钙通道,它对多个离子通道的影响可能是它有较小药物性心律失常作用的机制。

**1.1.2 白藜芦醇苷** 白藜芦醇苷(polydatin)是从蓼科蓼属植物虎杖等的干燥根提取分离的主要活性成分。研究表明,白藜芦醇苷可缩短大鼠乳头肌动作电位复极化过程,可抑制部分去极化乳头肌动作电位,其作用与心肌细胞 ATP 敏感钾通道激活和 L-型钙通道抑制有关<sup>[2]</sup>。有研究采用全细胞膜片钳方法探讨 polydatin 对大鼠心室肌细胞 L 型钙电流及其通道动力学的影响。结果再次证实<sup>[3]</sup>,polydatin 可浓度依赖性地降低 ICA-L,使 ICA-L 关系曲线逐渐上移,对 ICA-L 激活过程无影响,而使失活过程加快,对 ICA-L 失活后恢复过程无影响,其作用可能是其抗心律失常的电生理学机制之一。

**1.1.3 薯蓣皂苷** 薯蓣皂苷是从穿龙薯蓣提取的水溶性甾体皂苷,以它为有效成分的药物如地奥心血康已广泛应用于临床。有报道采用全细胞膜片钳技术,观察薯蓣皂苷对正常大鼠心室肌细胞 L-型钙通道电流的影响。结果表明<sup>[4]</sup>,能使 ICA-L 峰值降低,抑制呈剂量依赖性;使失活曲线向负电位方向变化,曲线左移,各剂量均对激活曲线无影响。这种对 L-型钙通道电流的阻断作用可能是它减轻钙超载,从离子通道水平探讨薯蓣皂苷对缺血再灌注损伤心肌的保护机制之一。

**1.1.4 丹参酮** 丹参酮是中药丹参的有效成分,具有钙离

子拮抗剂作用。有实验通过全细胞膜片钳和分子生物学技术观察丹参酮对肾动脉缩窄导致的大鼠肥厚心肌细胞上电生理指标和 CaN 的作用。结果表明<sup>[5]</sup>,丹参酮可显著缩短肥厚心肌细胞中的动作电位时间延长、降低膜电容和 ICA-L 峰值幅度,但不影响 ICA-L 密度,能减少胞内钙离子浓度,并且丹参酮能显著抑制肥厚心肌中 CaN 的表达,从而改善肥大大心肌细胞中存在的电生理异常和减轻心肌肥厚的发生。

**1.1.5 丹参素** 丹参素是丹参水溶性提取物中一种主要活性成分。有研究丹参素对单个大鼠心室肌细胞动作电位、L-型钙电流和 ATP 敏感性钾电流( $I_{KATP}$ )的影响,探讨丹参素在离子通道水平的药理机制。实验表明<sup>[6]</sup>,丹参素可影响心室肌细胞动作电位时程(APD),并能使 APD 25, APD 50 和 APD 90 显著缩短;丹参素能够抑制 L-型钙电流;丹参素可浓度依赖性地增大  $I_{KATP}$  外向电流。所以推断丹参素的心肌保护作用机制与抑制 L-型钙电流和部分激活  $I_{KATP}$  外向电流有关。

**1.1.6 银杏酮酯** 银杏酮酯(GBE50)是近年我国自主研发一种新型银杏叶提取物,有实验观察 GBE50 对模拟缺血游离豚鼠心室肌细胞 L 型钙电流和游离钙浓度的影响。结果表明<sup>[7]</sup>,缺血抑制豚鼠心室肌细胞的 ICA-L,使豚鼠心室肌细胞内游离钙增加,而  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  GBE50 减轻缺血对 ICA-L 的抑制效应和心室肌细胞内游离钙浓度的增加。GBE50 维持缺血时 ICA-L 的特性,可减轻心肌缺血区域与非缺血区域电生理的异质性,使缺血后豚鼠心肌细胞电生理稳定,减轻缺血后心肌细胞内钙超载介导的心肌损伤。

**1.1.7 甘松挥发油** 甘松挥发油是败酱科甘松属植物甘松的有效浓缩成分,是临床上广泛使用的稳心颗粒的主要成分。临床观察发现稳心颗粒对心律失常有较好的疗效。有研究用全细胞膜片钳技术,观察不同浓度的甘松挥发油对 L-型钙通道的影响<sup>[8]</sup>。不同浓度甘松挥发油可浓度依赖性地抑制 L-型钙电流,使 L-型钙电流-电压曲线上移,但激活电位、峰电位及反转电位无改变;激活曲线向正电位方向变化,失活曲线向负电位方向变化。在离子通道水平探讨甘松挥发油抗心律失常的作用机制。

**1.1.8 丹酚酸 A 和丹酚酸 B** 丹参是治疗冠心病的常用中药,丹参总酚酸(TSA)是丹参有效组分的水溶性部分。有研究<sup>[9]</sup>观察并证实了丹参总酚酸(TSA)对离体大鼠心肌缺血再灌注心脏的保护作用。丹酚酸 A 是丹酚酸中的主要化学成分之一。研究表明<sup>[10]</sup>,丹酚酸 A 可浓度依赖性的阻断心肌细胞钙通道电流,使 I-V 曲线上移,激活曲线右移,但不改变失活、恢复曲线的形状。丹酚酸 B 是从丹参中提取的药物单体,有研究<sup>[11]</sup>丹酚酸 B 对大鼠心肌细胞上的瞬时外向钾电流( $I_{to}$ )、内向整流钾电流( $I_{K1}$ )和 ICA-L 的电生理学作用。结果丹酚酸 B 对  $I_{to}$  和 ICA-L 具有抑制作用,使  $I_{to}$  通道失活后的恢复减慢,但不改变 ICA-L 的通道动力学。

## 1.2 中药复方

**1.2.1 参附注射液** 参附注射液应用于充血性心力衰竭已取得很好效果,它可显著地改善心功能。闰福曼等<sup>[12]</sup>采用

膜片钳单通道技术研究发现,参附注射液可浓度依赖性地增加 L-型钙通道的平均开放概率,提示其可能是通过促进钙离子的内流,达到增强心肌收缩力的作用,从而对抗心力衰竭。

**1.2.2 稳心颗粒** 稳心颗粒(山东步长制药有限公司)作为国家批准的第一个抗心律失常的中药制剂,由中国中医研究院研制,主要药物组成为党参、三七、黄精、甘松、琥珀,对多种类型心律失常的疗效确切且副作用小,已广泛使用。有研究<sup>[13]</sup>对稳心颗粒治疗早搏的症状改善情况进行观察,发现稳心颗粒有治疗早搏的作用。近来有研究其对大鼠心室肌细胞 L-型钙电流动力学特性的影响。研究表明<sup>[14]</sup>,稳心颗粒呈浓度依赖性地抑制 ICA-L,使 ICA-L 电流电压曲线上移,激活曲线右移,并延长失活后恢复时间,与其抗心律失常效应有关。

**1.2.3 丹参复方液** 丹参复方液由江苏江阴天江药业有限公司生产,主要包括丹参、生黄芪、钩藤、益母草、炒杜仲,具有逆转高血压性肥大心肌形态学结构的作用。有研究用腹主动脉缩窄法建立高血压性心肌肥大模型,利用灌胃法给予丹参复方液。结果表明<sup>[15]</sup>,高血压未治疗组的 L-型钙电流密度高于正常对照组,丹参复方液组小于高血压未治疗组,丹参复方液组与正常对照组相比无显著性差异。可以得出,丹参复方液具有逆转高血压性肥大心肌 L-型钙电流的药理作用。

## 2 中药对钙信号转导通路相关蛋白受体的影响

**2.1 氧化苦参碱** 氧化苦参碱(oxymatrine, OMT)是从豆科槐属植物苦豆子提取的氧化生物碱,具有抗炎、抗过敏、保肝及抗病毒等药理作用。有研究探讨氧化苦参碱对心肌细胞内钙离子、钙通道及钙调节相关蛋白的影响。结果表明<sup>[16]</sup>,在 OMT 的干预下,慢性心衰大鼠心肌细胞 L-型钙通道(DHPR)表达上调,促使 L-型钙电流的增大和钙诱导钙释放(CICR)的恢复,最终使心肌收缩力增强,心功能改善。慢性心衰大鼠心肌细胞内钙泵肌浆网  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶(SERCA2a)表达上调,促使心肌兴奋-收缩耦联(ECC)结束后钙回摄功能恢复,肌浆网内钙容量增加,改善心功能。

**2.2 益母草水苏碱** 益母草为唇形科植物,对心血管方面的影响是保护心肌,防止心肌损伤等。有研究<sup>[17]</sup>用去甲肾上腺素(NE)诱导新生大鼠心室肌细胞肥大,采用不同浓度的益母草水苏碱进行干预,观察肌浆网的钙摄取功能的改变及 SERCA 的含量和活性变化,明确益母草生物碱的疗效,进一步探索益母草生物碱对心肌细胞肌浆网钙摄取功能的影响。结果表明,益母草水苏碱可剂量依赖地提高 NE 诱导的心肌肥大细胞的肌浆网钙摄取和 SERCA 活性。

**2.3 银杏叶提取物** 肌浆网是心肌细胞内最重要的钙离子储存库, SERCA2a 活性的降低及其导致的肌浆网钙摄取能力的下降与心肌细胞舒张功能障碍有密切关系。有研究<sup>[18]</sup>探讨银杏叶提取物 EGB761 对 D-半乳糖诱导的心肌细胞老化肌浆网钙摄取能力及肌浆网  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶活性的影响。结果推断, EGB761 改善心肌细胞肌浆网钙摄取能力的作用

及其可能的机制是通过提高 SERCA 活性,增强肌浆网钙摄取功能,减轻细胞内钙超载,为今后研究老化心肌舒张功能不全的机制提供依据。

**2.4 黄芪丹参配伍** 有研究黄芪注射液、丹参注射液对肥大心肌细胞 SERCA2a、PLB mRNA 的影响。采用 Ang II 致大鼠心肌细胞肥大模型,分为对照组、模型组、黄芪组、丹参组、联合组,采用 RT-PCR 法观察给药后 24, 48, 72 h 心肌细胞 PLB 和 SERCA2a mRNA 水平。结果发现<sup>[19]</sup>, Ang II 可使 PLB 和 SERCA2a mRNA 水平降低。通过以上实验,我们推断黄芪注射液、丹参注射液对心肌舒张功能的保护作用可能部分体现在保护肌浆网钙摄取相关蛋白的基因转录水平<sup>[20]</sup>。

**2.5 益气活血药** 有研究通过将党参、黄芪、丹参等益气活血药用于心梗后心功能不全大鼠心肌细胞,观察调钙蛋白基因 RYR2, SERCA2a, PLB mRNA 的变化以及对其表达的干预作用,研究中药治疗心衰的机制。结果表明<sup>[21]</sup>,心衰大鼠心肌 RYR2、肌浆网 SERCA2a 和 PLB 的基因表达水平较对照组大鼠有明显下降,中药干预 4 周和 8 周后其表达较模型组明显增高。可以得出,这类中药能抑制心梗后心衰大鼠 RYR2, SERCA2a 及 PLB mRNA 的下降,但其作用缺乏特异性,可能与益气活血药能促进心肌细胞的能量代谢,防止心衰后心肌细胞凋亡和抑制心肌细胞重构有关。

## 3 总结与展望

随着电生理学和药理学研究技术的不断完善,特别是膜片钳技术和分子克隆技术等的应用,人们可以更加微观地了解中药,这无疑为人们研究中药作用的机制开辟了一条新途径。采用膜片钳技术可以直接观察细胞膜离子通道电流,从细胞-分子水平了解心血管活性中药的离子通道效应,是研究抗心律失常药物作用的靶点,阐明药物对离子通道活性影响以及抗心律失常作用机制的有效手段,以便为研制和开发更多、更有效的具有心肌保护作用的中药奠定基础。

目前,随着生物科学技术的发展,在离子通道结合信号转导水平寻找新的抗心律失常靶点,已经成为抗心律失常药物研究的新方向和热点。研究显示,细胞内钙稳态失调几乎出现在所有以致死性心律失常为共同特征的疾病中,胞内钙( $\text{Ca}^{2+}$ )-钙调蛋白(CaM)-钙调蛋白激酶(CaMK II)信号转导通路在胞内钙调控作用的发挥中居于中心地位,是左室肥厚心律失常的主要机制。研究中药调控细胞钙信号转导通路而降低肥厚性心律失常的发生率是近些年研究的热点,也为抗心律失常中药的研究提供新思路。

然而,目前的研究状况仍处于初级阶段,存在很多问题,更深入的研究有待从多方面进行完善。①中医中药多以复方为主治疗疾病,现有的研究大多是选取某味中药或其有效成分,对复方的研究也比较浅显,缺少中药复方理论的指导,利用膜片钳等技术探索中药复方研究策略,是加强中医药复方研究的重要手段;②利用现代科学技术,将中药作用分子机制与中医理论相结合,在细胞分子水平进行深入研究,不但有利于阐明中药作用机制,而且有利于中医药现代化;

③很多研究观察指标和疗效评价缺乏系统性和全面性,只是停留在某些重复指标的观测上,对单味中药和复方中有效成分的研究大多数仍处于探索和推测阶段,缺乏系统研究,需进一步深入;④中药与离子通道分布区域存在差异,中药对离子通道作用的具体靶点部位及其相关性也有待阐明。对中药多种有效成分交互作用的离子通道研究很少,缺少完整系统可靠的方法路线,但是其意义重大,要加深人们对中药复方的认识,从而提高中药制剂的临床疗效;⑤实验研究大多应用动物模型来观察药物在动物体内的效应,缺乏能较好符合中医理论的动物病理模型,而且对人体的作用可能存在差异性;⑥增强实验的创新性,加强科研单位的协作,重视更多先进技术的联合使用,减少重复的实验研究;⑦在实验研究中,中药复方由于不能完全溶解于水,所以在心肌细胞和离体组织水平上的研究中会出现一些困难,同时由于中药成分的复杂性,很难利用现有的技术在血液中检测到有效的血药浓度,这也是中药抗心律失常研究的难点。

总之,深入了解钙通道与钙信号转导系统的作用机制,把经典的通过影响离子通道干预细胞内游离钙离子浓度,达到改变细胞功能的目的,上升到干预钙信号转导通路相关蛋白表达,达到控制细胞内钙离子浓度的水平,这不仅仅是验证中药的传统功效,更重要的是可以用现代医学的检测手段和客观检测指标来阐明中药的作用机制,以此为桥梁实现中西医在基础医学上的结合,对继承和发扬中医学、加速中医现代化、开阔中药研发前景具有重要意义。

### [参考文献]

[1] WANG Rong-rong, LI Ning, ZHANG Yin-hui, et al. The effects of paeoniflorin monomer of a Chinese herb on cardiac ion channels [J]. *Chin Med J*, 2011, 124(19): 3105.

[2] Zhang L P, Wei Y, Song S L, et al. Effect of polydatin on action potential in ventricular papillary muscle of rat and the underlying ionic mechanism [J]. *Acta Physiol Sin*, 2011, 63(1): 48.

[3] 魏燕,周京京,张利萍,等.白藜芦醇苷对大鼠心肌细胞 L-型钙电流的抑制作用[J]. *中国药理学通报*, 2011, 27(10): 1478.

[4] 张铭慧,尹永强,何海燕,等.薯蓣皂苷对大鼠心肌细胞钙离子通道的影响[J]. *中药药理与临床*, 2011, 27(1): 23.

[5] 王照华,李永胜,杨乐,等.丹参酮对肥大心肌细胞中电生理特征和钙调神经磷酸酶活性的作用[J]. *现代中西医结合杂志*, 2011, 20(32): 4060.

[6] 顾明,吴兴文,李芳萍,等.丹参素对大鼠心肌动作电位、L-型钙电流和 ATP 敏感性钾电流的作用[J]. *中国临床药理学杂志*, 2010, 19(1): 1.

[7] 刘爱华,张志雄.银杏酮酯对缺血豚鼠心肌细胞

Ica-L 和游离钙的影响[J]. *中国药理学通报*, 2010, 26(3): 329.

[8] 曹明,葛郁芝,罗骏,等.中药甘松挥发油对大鼠心肌细胞膜 L 型钙通道的影响[J]. *时珍国医国药*, 2010, 21(9): 2264.

[9] 陈雯,郭丽丽,周婷婷,等.丹参总酚酸对离体心脏缺血再灌注损伤的保护作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(9): 173.

[10] Wang B, Liu J X, Meng H X, et al. Blocking effect of salvianolic acid a on calcium channels in isolated rat ventricular myocytes [J]. *Chin J Integr Med*, 2012, 18(5): 366.

[11] 冉玉琴,李宁,王蓉蓉,等.丹酚酸 B 对大鼠心肌细胞瞬时外向钾电流和 L 型钙电流的阻滞作用[J]. *中国心脏起搏与心电生理杂志*, 2010, 24(4): 344.

[12] 闰福曼,周乐全,康亚丽,等.参附注射液对心肌细胞膜 L-型钙通道的影响[J]. *中药药理与临床*, 2009, 25(1): 8.

[13] 武杨,武庚,文景爱.稳心颗粒对早搏病人症状及心电图改善的临床观察[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2009, 15(8): 92.

[14] 王晔,王鑫,唐艳红,等.稳心颗粒对大鼠心肌细胞 L 型钙电流的影响[J]. *岭南心血管病杂志*, 2011, 17(1): 60.

[15] 王佐好,韩晨光,赵娟,等.丹参复方液对大鼠肥大心肌 L 型钙电流的影响[J]. *武警医学院学报*, 2009, 18(10): 849.

[16] 胡淑婷.慢性心衰大鼠心肌细胞钙调控异常及药物干预的研究[D].上海:第二军医大学,2011.

[17] 孙祝美,李华,吕嵘,等.益母草水苏碱对大鼠心肌细胞肥大的肌浆网钙摄取及 SERCA 活性的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2010, 16(7): 118.

[18] 刘静,郭妍,陈相健.银杏叶提取物对 D-半乳糖诱导心肌细胞老化的肌浆网钙摄取及 SERCA 活性的影响[J]. *江苏医药*, 2011, 37(8): 869.

[19] 孙娅楠,农一兵,林谦.黄芪、丹参对肥大心肌细胞 SERCA2a, PLB mRNA 表达的影响[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2011, 17(11): 1214.

[20] 邹旭,牛平平,姚耿训,等.暖心胶囊对心衰大鼠肌浆网 Ca<sup>2+</sup>-ATP 酶、血浆 Ang II, ALD 以及血流动力学的影响[J]. *新中医*, 2011, 10(1): 110.

[21] 姜浩,农一兵,林谦.益气活血药对心梗后心功能不全大鼠心肌细胞 RYR2, SERCA2a 及 PLB mRNA 表达的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2011, 26(9): 1957.

[责任编辑 邹晓翠]