

芍药甘草汤及其拆方对超高温环境大鼠心肌、下丘脑 TRPV3, TRPV4 表达的影响

姚风云, 王琳, 刘春花, 王非云, 刘超, 姜劼琳, 王炳志*
(江西中医药大学 中医学院, 南昌 330004)

[摘要] **目的:** 通过观察芍药甘草汤及其拆方对超高温环境大鼠心肌、下丘脑瞬时感受器电位香草酸受体 3 (TRPV3) 和瞬时感受器电位香草酸受体 4 (TRPV4) 表达的影响, 探讨芍药甘草汤及其拆方抗高温的机制。**方法:** SPF 级 SD 雄性大鼠 75 只, 适应饲养 1 周后, 按体质量随机分为 5 组, 分别为常温正常组, 高温正常组, 芍药甘草汤组 ($2.16 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 单味白芍组 ($1.08 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和单味甘草组 ($1.08 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 除常温正常组外, 均饲养于人工气候箱, 各给药组按相应剂量连续给药 13 d, 常温正常组和高温正常组均给予同体积的纯净水; 通过蛋白免疫印迹法 (Western blot) 和实时荧光定量聚合酶链式反应 (Real-time PCR) 测定各组心肌、下丘脑 TRPV3, TRPV4 蛋白和 mRNA 的表达情况。**结果:** 与常温正常组比较, 高温正常组大鼠心肌 TRPV3 蛋白表达显著上升 ($P < 0.01$); 心肌 TRPV4 mRNA 表达明显下降 ($P < 0.05$); 下丘脑 TRPV3 蛋白表达显著上升 ($P < 0.01$); 下丘脑 TRPV3 mRNA 表达明显下降 ($P < 0.05$)。与高温正常组比较, 单味白芍组大鼠心肌 TRPV3, TRPV4 蛋白表达显著下降 ($P < 0.01$); 芍药甘草汤组与单味甘草组大鼠心肌 TRPV4 蛋白表达明显下降 ($P < 0.05$); 单味白芍组大鼠心肌 TRPV4 mRNA 表达明显上升 ($P < 0.05$)。**结论:** 大鼠心肌、下丘脑 TRPV3, TRPV4 通道在高温环境下被激活, 芍药甘草汤及其拆方抗高温机制与调节大鼠心肌、下丘脑 TRPV3, TRPV4 通道蛋白及 mRNA 表达有关。

[关键词] 芍药甘草汤; 超高温; 瞬时感受器电位香草酸受体 3; 瞬时感受器电位香草酸受体 4; 机制

[中图分类号] R2-0; R22; R285.5; R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903 (2019) 24-0009-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20192301

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190820.1127.005.html>

[网络出版时间] 2019-08-20 12:25

Effect of Shaoyao Gancaotang and Its Disassembled Prescriptions on Expressions of TRPV3, TRPV4 in Myocardium and Hypothalamus of Rats with Ultra-high Temperature

YAO Feng-yun, WANG Lin, LIU Chun-hua, WANG Fei-yun, LIU Chao, JIANG Jie-lin, WANG Bing-zhi*
(College of Traditional Chinese Medicine (TCM), Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Shaoyao Gancaotang and its disassembled prescriptions on the expressions of transient receptor potential vanilloid 3 (TRPV3) and transient receptor potential vanilloid 4 (TRPV4) in myocardium and hypothalamus of rats in the ultra-high temperature environment, in order to explore the mechanism of Shaoyao Gancaotang and its disassembled prescriptions against the high temperature. **Method:** Seventy five male SPF-grade SD rats were randomly divided into 5 groups according to their body weight, namely normal control group, high temperature normal control group, Shaoyao Gancaotang group ($2.16 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), single Paeoniae Radix Alba (PRA) group ($1.08 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) and single Glycyrrhizae Radix et Rhizoma (GRR) group

[收稿日期] 20190524 (015)

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (81503489); 江西省卫计委中医药科技计划项目 (2016B016); 江西省百人远航工程项目 (赣科协字 [2016]120 号)

[第一作者] 姚风云, 博士, 教授, 从事方剂配伍规律与现代研究, Tel: 0791-87118923, E-mail: hrbyaoyao2000@163.com

[通信作者] * 王炳志, 高级实验师, 从事复方药理学研究, Tel: 0791-87118626, E-mail: wbzh1123@163.com

(1.08 g·kg⁻¹). Except normal control group, the remaining groups were fed in artificial climate boxes for 13 days. The normal control group and the high temperature normal control group were given the same volume of pure water. Western blot and quantitative real-time fluorescence polymerase chain reaction (Real-time PCR) were used to determine expressions of TRPV3, TRPV4 protein and mRNA in myocardium and hypothalamus of each group. **Result:** Compared with the normothermic control group, the expressions of TRPV3 protein, TRPV4 mRNA, TRPV3 protein and TRPV3 mRNA in the myocardium of the hyperthermic control group were significantly higher than those of the normal control group ($P < 0.05$), and the expression of TRPV3 protein in the hypothalamus was significantly higher than that of the normal control group ($P < 0.05$). Compared with the normal control group, the expressions of TRPV3, TRPV4 proteins in myocardium of rats in PRA group were significantly lower than those in the control group, and the expression of TRPV4 protein in myocardium of rats in Shaoyao Gancaotang group and GRR group was significantly lower than that in control group. The expression of TRPV4 mRNA in myocardium of rats in PRA group was significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusion:** TRPV3, TRPV4 channels in rat myocardium and hypothalamus were activated in the high temperature environment. The anti-hyperthermic mechanism of Shaoyao Gancaotang and its disassembled prescriptions was related to the regulation of TRPV3, TRPV4 channel protein and mRNA expressions in rat myocardium and hypothalamus.

[**Key words**] Shaoyao Gancaotang; ultra-high temperature; transient receptor potential vanilloid 3; transient receptor potential vanilloid 4; mechanism

芍药甘草汤是张仲景“酸甘化阴”配伍的代表方剂,始载于《伤寒论》太阳病篇 29 条:“伤寒,脉浮,自汗出,小便数,心烦,微恶寒,脚挛急。反与桂枝欲攻其表,此误也……若厥愈足温者,更作芍药甘草汤与之,其脚即伸。”用于误用汗法或下法后伤及营血和阴津^[1-3]。方中白芍苦、酸,微寒,具有养血敛阴益营之效^[4];甘草甘、平,善入太阴,补脾益气。二者配伍能产生和增强滋阴养血、生津补液的药效^[5-6]。高温会导致人体体温调节功能异常,从而损害人体多个系统^[7],更有甚者可能导致死亡或缩短寿命^[7-8]。现代研究表明,高温可致不同程度的中暑,重症中暑还会导致热痉挛、热衰竭、日射病和热射病等,其中高温对心血管疾病患者的危害尤为明显^[9-13]。本实验发现芍药甘草汤及其拆方能降低高温环境下大鼠的死亡率,然而关于该方的耐高温机制尚未见报道。热激活通道瞬时感受器电位香草酸受体 3 (TRPV3), TRPV4 在人体中广泛表达于感觉神经元和皮肤角化细胞等,是主要的动物细胞温度感受器^[14-15]。故本实验旨通过观察芍药甘草汤及其拆方对超高温环境下大鼠组织中 TRPV3, TRPV4 温度敏感通道的影响,探讨该方改善大鼠高温环境死亡的机制。

1 材料

1.1 动物 SPF 级 SD 雄性大鼠,均购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,合格证号 SCXK(湘)2013-0004。此动物实验开展经江西中医药大学实

验动物伦理委员会审查批准(批准号 JZLLSC:2018-0048)。

1.2 药物及试剂 中药饮片白芍、甘草片均购自北京同仁堂(亳州)饮片有限公司,产地分别是安徽、内蒙古;批号分别为 301003383P,401133319P。经江西中医药大学龚千锋教授鉴定白芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* 的干燥根,甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* 的根及根状茎。trizol(美国 Invitrogen 公司,批号 15596-026);cDNA 第一链合成试剂盒, *Taq* DNA Polymerase(美国 Thermo Fisher 公司,批号分别为 K1622, EP0405); Agarose(西班牙 Biowest 公司,批号 111860);50 倍 TAE 电泳缓冲液, SDS-PAGE 凝胶电泳试剂盒,蛋白免疫印迹法(Western blot)检测试剂盒, ECL 检测试剂盒, Bradford 蛋白含量检测试剂盒,丽春红染色液,羊抗兔二抗(江苏凯基生物技术股份有限公司,批号分别为 KGM020, KGP113, KGP1201, KGP1123, KGA801, KGP105, KGAA35); TRPV3 一抗, TRPV4 一抗(武汉博士德生物工程有限公司,批号分别为 BA2875-2, BA2876-2);甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)一抗(美国 Abcam 公司,批号 ab181602)。

1.3 仪器 RXZ 型智能人工气候箱(宁波江南仪器公司);DA7600 型实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)循环仪(中山大学达安基因股份有限公司);ELx800 型酶标仪(美国 Bio-Tek 公司);Veriti 96 well Thermal cycler 型普通梯度 PCR 仪(美

国 ABI 公司); BL310/BL21S 型分析天平(德国 Sartorius 公司); DYY-6B 型核酸电泳仪(北京六一生物科技有限公司); G:BOXChemiXR5 型凝胶成像分析系统(英国 Syngene 公司); 5024R 型高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司); 组织匀浆器(海门市爱苯德实验器材有限公司); 164-5051 型 PowerPac™ 基础电泳仪电源, 170-4150 型 Trans-Blot Turbo 全能型蛋白转印系统(美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 动物分组造模与给药 SPF 级 SD 雄性大鼠 75 只, 适应饲养 1 周后, 按体质量随机分为 5 组, 分别为常温正常组、高温正常组、芍药甘草汤组、单味白芍组和单味甘草组, 饲养于人工气候箱, 条件设置参考气温日变化^[16]: 每天上午 9 ~ 10 点温度从 30 °C 升至 36 °C, 10 ~ 15 点从 36 °C 升至 39 °C, 其他时间段饲养温度均控制在 (31 ± 1) °C, 昼夜交替光照, 24 h 为 1 个循环。每天上午 9 时分别灌胃给予各组大鼠相应的药物 1 次, 芍药甘草汤组 2.16 g·kg⁻¹·d⁻¹, 单味芍药组 1.08 g·kg⁻¹·d⁻¹, 单味甘草组 1.08 g·kg⁻¹·d⁻¹, 正常组给予同体积的纯净水, 给药剂量根据临床等效剂量换算, 给药体积均为 10 mL·kg⁻¹, 连续给药 13 d。

2.2 标本采集 于高温饲养第 13 天处理大鼠, 处理前禁食但不禁水 12 h, 给予氨基甲酸乙酯 (1 g·kg⁻¹) 腹腔注射麻醉后, 迅速取出心脏、下丘脑组织, 放入 -80 °C 冰箱冻存以进行 Western blot 及 Real-time PCR 检测。

2.3 Western blot 检测心、下丘脑 TRPV3, TRPV4 蛋白的表达水平 取大鼠心、下丘脑组织剪碎(置于冰面上), 加入含有蛋白酶抑制剂的裂解液, 研磨打碎, 然后 14 000 r·min⁻¹, 4 °C 离心 15 min, 取上清液, BCA 法测定蛋白浓度和标准曲线后进行蛋白变性。取待测蛋白样品进行 SDS-PAGE 电泳后转膜至 PVDF 膜, 加入含 5% 脱脂奶粉的封闭液, 摇床振荡 1.5 ~ 2 h。封闭结束后, 用 TBST 洗膜每次 10 min, 加入 TRPV3 (1 : 500), TRPV4 (1 : 500), GAPDH (1 : 1 万) 抗体, 4 °C 摇床振荡孵育过夜。第 2 天取出, 室温振荡 30 min, 吸弃一抗, TBST 洗 10 min, 3 次。用 5% 脱脂奶粉封闭液稀释二抗 (1 : 1 000), 室温摇床振荡反应 1 ~ 2 h。二抗反应结束后, 回收二抗。然后用 TBST 洗膜 5 ~ 10 min, 3 次。以 GAPDH 作为内参, 分析灰度值。

2.4 Real-time PCR 法检测心、下丘脑 TRPV3, TRPV4 mRNA 的表达水平 用 trizol 法提取心肌和

下丘脑的总 RNA, 检测其纯度和浓度, 逆转录 cDNA 后扩增, 扩增条件为 95 °C 5 min 使 RNA 酶失活, 40 个循环 (95 °C 15 s, 60 °C 20 s, 72 °C 40 s) 扩增, 95 °C 15 s, 60 °C 1 min, 95 °C 15 s 绘制溶解度曲线。以 GAPDH 为内参基因, 定量方法选用 2^{-ΔΔC_t} 法, 计算得心、下丘脑 TRPV3, TRPV4 mRNA 的相对表达量。用 NCBI Primer Blast 设计引物序列, 由江苏凯基生物技术股份有限公司合成引物, 见表 1。

表 1 PCR 引物序列

Table 1 Primer sequence of PCR

| 引物 | 序列(5'-3') | 长度/bp |
|-------|-----------------------------|-------|
| TRPV3 | 上游 GGACACGACGACAGATAACTC | 156 |
| | 下游 AAGCAGAAGGACAAGAAGAACA | |
| TRPV4 | 上游 CAGCCGCACATCGTCAACTACC | 80 |
| | 下游 GTGTTGCCTCTGGAGTCTCTGTC | |
| GAPDH | 上游 AGGTTGTCTCTGTGACTTCAA | 130 |
| | 下游 CTGTTGCTGTAGCCATATTCATTG | |

2.5 统计学分析 采用 SPSS 20.0 软件对实验数据进行统计学分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两样本间比较采用 *t* 检验, 以 *P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 对大鼠死亡率的影响 与高温正常组比较, 各给药组大鼠死亡率均有不同程度下降趋势, 死亡率从低到高依次为单味甘草组、芍药甘草汤组和单味白芍组。见表 2。

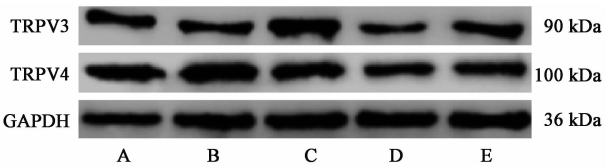
表 2 芍药甘草汤及其拆方对大鼠死亡率的影响

Table 2 Effect of Shaoyao Gancaotang and its disassembled prescription on mortality in rats

| 组别 | 剂量 /g·kg ⁻¹ | 原始动物 /只 | 剩余动物 /只 | 死亡率 /% |
|-------|------------------------|---------|---------|--------|
| 常温正常 | - | 15 | 15 | 0 |
| 高温正常 | - | 15 | 7 | 53.33 |
| 芍药甘草汤 | 2.16 | 15 | 10 | 33.33 |
| 单味白芍 | 1.08 | 15 | 8 | 46.67 |
| 单味甘草 | 1.08 | 15 | 11 | 26.67 |

3.2 对大鼠心肌 TRPV3, TRPV4 蛋白表达的影响 与常温正常组比较, 高温正常组大鼠心肌 TRPV3, TRPV4 蛋白表达均上升, 其中 TRPV3 蛋白表达显著上升 (*P* < 0.01); 单味白芍组 TRPV3, TRPV4 和单味甘草组 TRPV4 蛋白表达均显著下降 (*P* < 0.01)。与高温正常组比较, 各用药组均呈下

降趋势,其中单味白芍组大鼠心肌 TRPV3, TRPV4 蛋白表达显著下降($P < 0.01$),芍药甘草汤组与单味甘草组 TRPV4 蛋白表达明显下降($P < 0.05$)。见图 1,表 3。



A. 常温正常组; B. 高温正常组; C. 芍药甘草汤组; D. 单味白芍组; E. 单味甘草组(图 2 同)

图 1 各组大鼠心肌组织 TRPV3, TRPV4 蛋白表达电泳
Fig. 1 Electrophoresis of TRPV3, TRPV4 protein expression in myocardium of each groups

表 3 芍药甘草汤及其拆方对大鼠心肌 TRPV3, TRPV4 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 15$)

Table 3 Effect of Shaoyao Gancaotang and its disassembled prescription on expression of TRPV3, TRPV4 protein in rat myocardium($\bar{x} \pm s, n = 15$)

| 组别 | 剂量 /g·kg ⁻¹ | TRPV3 /GAPDH | TRPV4 /GAPDH |
|-------|---------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 常温正常 | - | 0.450 ± 0.106 | 0.631 ± 0.033 |
| 高温正常 | - | 0.611 ± 0.146 ²⁾ | 0.813 ± 0.318 |
| 芍药甘草汤 | 2.16 | 0.503 ± 0.672 | 0.570 ± 0.191 ³⁾ |
| 单味白芍 | 1.08 | 0.167 ± 0.120 ^{2,4)} | 0.374 ± 0.029 ^{2,4)} |
| 单味甘草 | 1.08 | 0.443 ± 0.290 | 0.395 ± 0.047 ^{2,3)} |

注:与常温正常组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与高温正常组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 4 ~ 6 同)。

3.3 对大鼠心肌 TRPV3, TRPV4 mRNA 表达的影响 与常温正常组比较,高温正常组大鼠心肌 TRPV3, TRPV4 mRNA 表达下降,且 TRPV4 mRNA 表达明显下降($P < 0.05$);各用药组除芍药甘草汤组 TRPV3 mRNA 为上升,其余均有不同程度下降,其中单味甘草组 TRPV4 mRNA 表达明显下降($P < 0.05$)。与高温正常组比较,单味白芍组大鼠心肌 TRPV4 mRNA 表达明显上升($P < 0.05$)。见表 4。

3.4 对大鼠下丘脑 TRPV3, TRPV4 蛋白表达的影响 与常温正常组比较,其他各组大鼠下丘脑 TRPV3 蛋白表达均有所上升,其中高温正常组和芍药甘草汤组有显著差异($P < 0.01$)。单味白芍组大鼠下丘脑 TRPV4 蛋白表达与常温正常组相比明显下降($P < 0.05$)。见图 2,表 5。

3.5 对大鼠下丘脑 TRPV3, TRPV4 mRNA 表达的影响 与常温正常组比较,高温正常组大鼠下丘脑 TRPV3 mRNA 表达明显下降($P < 0.05$);其他各组

表 4 芍药甘草汤及其拆方对心肌 TRPV3, TRPV4 mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 15$)

Table 4 Effect of Shaoyao Gancaotang and its disassembled prescription on expression of TRPV3, TRPV4 mRNA in rat myocardium($\bar{x} \pm s, n = 15$)

| 组别 | 剂量 /g·kg ⁻¹ | TRPV3 | TRPV4 |
|-------|---------------------------|---------------|-----------------------------|
| 常温正常 | - | 1.466 ± 1.584 | 0.786 ± 0.383 |
| 高温正常 | - | 1.129 ± 0.957 | 0.504 ± 0.222 ¹⁾ |
| 芍药甘草汤 | 2.16 | 2.134 ± 1.815 | 0.508 ± 0.332 |
| 单味白芍 | 1.08 | 1.313 ± 1.280 | 0.710 ± 0.256 ³⁾ |
| 单味甘草 | 1.08 | 1.044 ± 0.645 | 0.497 ± 0.291 ¹⁾ |

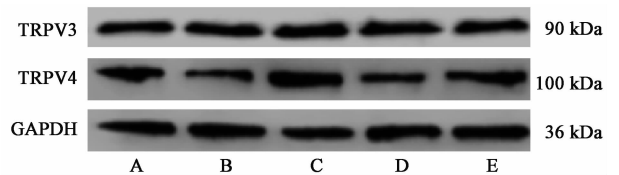


图 2 各组大鼠下丘脑 TRPV3, TRPV4 蛋白表达电泳
Fig. 2 Electrophoresis of TRPV3, TRPV4 protein expression in hypothalamus of each groups

表 5 芍药甘草汤及其拆方对下丘脑 TRPV3, TRPV4 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 15$)

Table 5 Effect of Shaoyao Gancaotang and its disassembled prescription on expression of TRPV3, TRPV4 protein in hypothalamus($\bar{x} \pm s, n = 15$)

| 组别 | 剂量 /g·kg ⁻¹ | TRPV3 /GAPDH | TRPV4 /GAPDH |
|-------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 常温正常 | - | 0.250 ± 0.157 | 0.529 ± 0.219 |
| 高温正常 | - | 0.404 ± 0.109 ²⁾ | 0.372 ± 0.129 |
| 芍药甘草汤 | 2.16 | 0.491 ± 0.169 ²⁾ | 0.615 ± 0.410 |
| 单味白芍 | 1.08 | 0.372 ± 0.217 | 0.294 ± 0.079 ¹⁾ |
| 单味甘草 | 1.08 | 0.317 ± 0.185 | 0.439 ± 0.021 |

大鼠下丘脑 TRPV4 mRNA 表达均有不同程度下降,但无统计学意义。见表 6。

4 讨论

人是恒温动物,当外界温度升高时,温度感受器将信息传入下丘脑体温调节中枢,经整合传入甲状腺、肾上腺等效应器,再通过内分泌系统调节代谢活动来影响机体的散热^[17]。故下丘脑在体温调节中扮演着重要的角色。而人体中首先参与体温调节的是血管效应器。心脏通过向皮肤血管网输送血液将人体内部热量向皮肤表面的传递来达到散热目的。

表 6 芍药甘草汤及其拆方对下丘脑 TRPV3, TRPV4 mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 15$)

Table 6 Effect of Shaoyao Gancaotang and its disassembled prescription on expression of TRPV3, TRPV4 mRNA in hypothalamus($\bar{x} \pm s, n = 15$)

| 组别 | 剂量 /g·kg ⁻¹ | TRPV3 | TRPV4 |
|-------|------------------------|-----------------------------|---------------|
| 常温正常 | - | 0.871 ± 0.306 | 1.006 ± 1.046 |
| 高温正常 | - | 0.606 ± 0.144 ¹⁾ | 0.168 ± 0.077 |
| 芍药甘草汤 | 2.16 | 2.110 ± 2.900 | 0.607 ± 0.948 |
| 单味白芍 | 1.08 | 0.852 ± 0.357 | 0.329 ± 0.205 |
| 单味甘草 | 1.08 | 1.020 ± 0.854 | 0.315 ± 0.314 |

当血管运动不能满足人体散热时,体温调节性出汗开始,而出汗会导致体内水分减少,从而使有效循环血容量减少,同时心脏还需要向骨骼肌输送血液以维持正常生命活动。这种供需矛盾使得心肌收缩增强以提高心输出量,增加外周有效循环血量^[18]。故而心脏在人体调节体温的过程中发挥着重要作用。张仲景《伤寒论》中芍药、甘草配伍达到 25 余次,主治误下致营阴耗伤^[19]。

金代医家成无己在《注解伤寒论》中有:“酸以收之,甘以缓之,故酸甘相合,用补阴血”。言明了酸味药与甘味药配伍可滋阴养血^[20]。人在高温环境下代谢加快,皮肤蒸发散热增加,体液大量耗损^[21],这与芍药甘草汤主治的营阴耗伤相符。

瞬时受体电位(TRP)通道是阳离子通道的超家族,家族之一的瞬时受体电位香草酸亚型(TRPV)有 6 个成员(TRPV1 ~ TRPV6),其中 4 个成员(TRPV1 ~ TRPV4)在热感觉中起重要作用,因此被称为热敏 TRPV 通道^[22]。但每个通道感受温度的范围不一样,其中 TRPV3 能够感受 34 °C 以上的温度,TRPV4 能够感受 27 °C 以上的温度^[23-24]。TRPV 广泛存在于大脑、心脏等组织中,参与多种生理过程,如温度感觉及体温调节等^[25-26]。研究表明,TRPV3, TRPV4 通道被激活后,钙离子内流增加,促使 cAMP 水平升高,进而会导致体温升高^[27-28]。

本实验通过观察大鼠心、下丘脑中 TRPV3, TRPV4 蛋白及其 mRNA 的表达,探讨芍药甘草汤及其拆方耐高温环境大鼠的死亡机制。本次研究表明,单味甘草对于降低超高温环境下大鼠死亡率最为有效,芍药甘草汤次之,而单味白芍的作用最小。机制研究显示,高温可使大鼠心肌 TRPV3, TRPV4 及下丘脑 TRPV3 蛋白表达上升,而各给药组对心肌 TRPV3, TRPV4 蛋白的升高均有对抗作用,其中单

味白芍组的抑制幅度尤为突出,显著低于常温正常组,单味白芍及甘草组对下丘脑 TRPV3 蛋白表达的上升有一定的对抗作用;高温可下调大鼠心肌 TRPV4 mRNA 和下丘脑 TRPV3 mRNA 表达,而各给药组对下丘脑 TRPV3 mRNA 表达下降均有不同程度的对抗作用,单味白芍及芍药甘草汤组则对心肌 TRPV4 mRNA 表达下调有对抗作用。当直接调控蛋白时,蛋白水平下降,细胞为维持体内平衡,则会促进基因的转录,反之蛋白水平上升时,细胞可能会降低基因的转录。故结果显示各组蛋白与基因表达趋势相反。综上所述,高温可以激活大鼠心肌、下丘脑 TRPV3, TRPV4 通道使体温升高,而芍药甘草汤及其拆方对高温下大鼠心肌、下丘脑 TRPV3, TRPV4 通道蛋白表达的上升有一定的对抗作用。

[参考文献]

[1] 刘森,庞立健,吕晓东. 芍药甘草汤临证理论再探讨[J]. 中医药通报,2018,17(5):10-13.

[2] 秦劭晨,王爱梅,李若瑜. 芍药甘草汤加减对 MPTP 诱导的帕金森病模型小鼠的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(13):15-21.

[3] 唐晓章,林美斯,周菲,等. 经典名方芍药甘草汤的物质基准量值传递分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(14):62-69.

[4] 刘萍. 芍药、白芍、赤芍的历代本草考证浅析[J]. 中华中医药杂志,2018,33(12):5662-5665.

[5] 赵国平,钱三旗,李志强. 芍药甘草汤方证特征与拓展应用思路探讨[J]. 中成药,2007,29(10):1503-1504.

[6] 宋艳丽,卫爱武,孙自学,等. 寿胎丸合芍药甘草汤加味对复发性流产患者的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(7):36-42.

[7] Cheshire W P J. Thermoregulatory disorders and illness related to heat and cold stress[J]. Auton Neurosci,2016,196:91-104.

[8] ZHANG B, XIAO R, Ronan E A, 等. 环境温度变化差异性通过温度敏感 TRP 通道受体调控线虫寿命[J]. 科学新闻,2016,1:116.

[9] 郭旭光. 盛夏养生防中暑[N]. 中国中医药报,2018-07-11(007).

[10] Mørch S S, Andersen J D H, Bestle M H. Heat stroke: a medical emergency appearing in new regions[J]. Case Rep Crit Care, 2017, doi:10.1155/2017/6219236.

[11] HAN J, LIU S Q, ZHANG J, et al. The impact of temperature extremes on mortality: a time-series study in Jinan, China[J]. BMJ Open,2017,7(4):e014741.

[12] YIN Q, WANG J F. The association between consecutive

- days' heat wave and cardiovascular disease mortality in Beijing, China[J]. BMC Public Health, 2017, 17: 223.
- [13] Kang S H, Oh I Y, Heo J, et al. Heat, heat waves, and out-of-hospital cardiac arrest [J]. Int J Cardiol, 2016, 221: 232-237.
- [14] 程为. 温度敏感 TRP 离子通道的异源组装和功能研究[D]. 大连:大连理工大学, 2012.
- [15] 李丹阳, 赵亚娟, 白占涛. 冷敏感 TRP 通道及其表达与调控[J]. 延安大学学报: 自然科学版, 2018, 37(3): 92-96.
- [16] 黄新南. 分段分层理解“气温日变化”[J]. 地理教育, 2003, 5: 17.
- [17] 管又飞, 刘传勇. 医学生理学[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2013: 195-201.
- [18] 张辉. 高温对工人健康状况影响的研究[J]. 中国城乡企业卫生, 2018, 33(9): 41-43.
- [19] 刘萍. 酸甘化阴法的源流与临证应用[N]. 中国中医药报, 2017-12-25(004).
- [20] 王景霞, 杨旭, 张建军, 等. 基于气味理论的酸甘化阴法本质探析[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(6): 2075-2078.
- [21] 唐明远. 高温暴露对人体热平衡的影响及热损伤[J]. 节能, 2018, 37(5): 77-80.
- [22] Lejla Z, Mark A. Herzik J, et al. Conformational ensemble of the human TRPV3 ion channel[J]. Nature Communications, 2018, 9: 4773.
- [23] 唐宗湘. 温度敏感的 TRP 通道与中药药性四气理论[J]. 南京中医药大学学报, 2015, 31(4): 301-304.
- [24] David E C. Hot and cold TRP ion channels[J]. Science, 2002, 295(5563): 2228.
- [25] 程为, 刘佳, 孙长森, 等. 温度敏感 TRP 通道作为神经病理痛药物靶点的研究进展[J]. 生理科学进展, 2012, 43(2): 125-130.
- [26] 宋阳, 詹磊, 黄成, 等. 瞬时感受器电位离子通道香草素受体亚家族 4 调控肝星状细胞活化增殖作用研究[J]. 中国药理学通报, 2016, 32(5): 681-687.
- [27] 洪婷, 张洁, 殷玉婷. TRPV3 通道在干酵母致发热大鼠下丘脑的表达及机制[J]. 广东医学, 2017, 38(15): 2284-2285, 2289.
- [28] 施蓓, Puja P, 孟凡鑫, 等. 下丘脑正中视前核内注入 4- α -佛波醇-12, 13-二葵酸对急性冷暴露大鼠体温的影响[J]. 中国医科大学学报, 2011, 40(12): 1072-1074, 1078.

[责任编辑 周冰冰]