

TLR4/NF- κ B 信号通路在黄芪甲苷抑制异丙肾上腺素诱导大鼠心肌肥厚中的作用

杨娟^{1,2}, 王洪新¹, 张英杰², 李胜陶¹, 鲁美丽¹, 张静¹, 张素萍¹

(辽宁医学院 1. 心血管药物研究重点实验室; 2. 第一附属医院内科, 辽宁省锦州市 121001)

[关键词] 黄芪甲苷; 异丙肾上腺素; 心肌肥厚; TLR4/NF- κ B 信号通路

[摘要] **目的** 探讨 TLR4/NF- κ B 信号通路在黄芪甲苷抑制异丙肾上腺素诱导大鼠心肌肥厚中的作用。**方法** 以异丙肾上腺素 5 mg/(kg·d) 腹腔注射制备大鼠心肌肥厚模型。60 只 SD 大鼠随机分为 6 组, 每组 10 只: 正常对照组、异丙肾上腺素组、异丙肾上腺素 + 黄芪甲苷 20 mg/(kg·d)、异丙肾上腺素 + 黄芪甲苷 40 mg/(kg·d)、异丙肾上腺素 + 黄芪甲苷 80 mg/(kg·d) 及异丙肾上腺素 + 普萘洛尔 40 mg/(kg·d)。给药组连续灌胃 3 周, 并于灌胃 1 天后腹腔注射异丙肾上腺素 2 周。给药 3 周后, 分别检测各组大鼠全心质量指数 (HMI)、左心质量指数 (LVMI); 取左心室组织进行 HE 染色, 测量左心室心肌细胞横径; RT-PCR 检测心肌组织 ANP 和 TLR4 的 mRNA 表达; Western blot 检测心肌组织 TLR4、p65 和 I κ B α 的蛋白表达; ELISA 检测血清中 TNF- α 、IL-6 含量。**结果** 同正常对照组相比, 异丙肾上腺素组大鼠表现为 HMI 和 LVMI 显著增加, 左心室心肌细胞横径增加, ANP 和 TLR4 mRNA 表达增加, TLR4 和 p65 蛋白含量增加以及 I κ B α 蛋白含量减少, 血清中 TNF- α 、IL-6 含量明显增加。与异丙肾上腺素组相比, 黄芪甲苷不同剂量组表现为 HMI 和 LVMI 降低, 左心室心肌细胞横径缩小, ANP 和 TLR4 mRNA 表达减少, TLR4 和 p65 蛋白含量减少以及 I κ B α 蛋白含量增加, 血清中 TNF- α 、IL-6 含量减少, 且呈一定的剂量依赖性。**结论** 黄芪甲苷对异丙肾上腺素诱导的心肌肥厚有保护作用, 其机制可能与抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路有关。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

The Effect of TLR4/NF- κ B Signaling Pathway on Astragaloside IV Inhibiting Myocardial Hypertrophy Induced by Isoproterenol in Rats

YANG Juan^{1,2}, WANG Hong-Xin¹, ZHANG Ying-Jie², LI Sheng-Tao¹, LU Mei-Li¹, ZHANG Jing¹, and ZHANG Su-Ping¹

(1. Key Laboratory of Molecular Biology and Drug Research, 2. Cardiology Department of the First Affiliated Hospital, Liaoning Medical College, Jinzhou, Liaoning 121001, China)

[KEY WORDS] Astragaloside IV; Isoproterenol; Myocardial Hypertrophy; TLR4/NF- κ B Signaling Pathway

[ABSTRACT] **Aim** To observe the effect of TLR4/NF- κ B signaling pathway on astragaloside IV inhibiting myocardial hypertrophy induced by isoproterenol (ISO). **Methods** The ISO [5 mg/(kg·d)] was used as myocardial hypertrophy models by intraperitoneal injection. Sixty SD rats were randomly assigned to the following six groups (10 rats for each group): normal group, ISO group, ISO plus astragaloside IV 20 mg/(kg·d) group, ISO plus astragaloside IV 40 mg/(kg·d) group, ISO plus astragaloside IV 80 mg/(kg·d) group, ISO plus propranolol 40 mg/(kg·d) group. Administered groups received continually intragastric administration for 3 weeks, and ISO were intraperitoneal injected as long as 2 weeks in the day after that. 3 weeks later, heart mass index (HMI) and left ventricular mass index (LVMI) of rats in each group were measured. HE staining was used for measuring transverse diameter of left ventricular myocardial cells (TDM). RT-PCR was used to quantify mRNA expression of ANP and TLR4, Western blot was used to quantify protein expression of TLR4, p65 and I κ B α in the tissue, ELISA was used to quantify TNF- α and IL-6. **Results** Comparing the ISO group with the normal group, the differences were in the followings: the HMI and LVMI were significantly increa-

[收稿日期] 2013-01-09

[基金项目] 国家自然科学基金(30973898/C190702)项目; 辽宁省自然科学基金(201102141)项目

[作者简介] 杨娟, 硕士, 研究方向为心血管病学, E-mail 为 sixmorning@163.com。通讯作者王洪新, 博士, 教授, 研究方向为心血管药理学及天然药物, E-mail 为 jyhxbwang@163.com。张英杰, 博士, 研究方向为心律失常的诊治。

sed, the TDM were increased, the protein expression of TLR4 and p65 were increased, while the IκBα were decreased; the expression of TLR4 and ANP mRNA were increased, TNF-α and IL-6 in serum were significantly increased. Comparing the other 3 groups (ISO plus astragaloside IV) with the ISO group, the differences were in the followings: the HMI and LVMI were significantly decreased, TDM were decreased, the protein expression of TLR4 and p65 were decreased, while the IκBα were increased; the expression of TLR4 and ANP mRNA were decreased, TNF-α and IL-6 in serum were significantly decreased, and the differences were positively related to dose of three groups. **Conclusions** astragaloside IV has a protective effect on cardiac hypertrophy induced by ISO, which is partially referred to inhibiting the TLR4/NF-κB signaling pathway and more than attenuating inflammatory effect.

临床研究表明,心肌肥厚是引起心血管疾病发生率和死亡率显著升高的独立危险因素^[1]。持续的β肾上腺素受体兴奋能促进心肌肥厚,并且使心肌中促炎因子表达增加^[2],这些炎症因子主要通过激活炎症信号通路下游核因子κB(nuclear factor-κB,NF-κB)参与心肌肥厚反应^[3]。而Toll样受体4(Toll like receptor 4,TLR4)则是介导心肌肥厚炎症信号的重要受体,TLR4的活化可使NF-κB的表达增加,进而引起一系列炎性因子的表达^[4],所以我们推测TLR4/NF-κB信号传导通路是导致左心室肥厚的一条重要途径。黄芪甲苷为黄芪有效成分之一,具有广泛的药理作用,可减少心肌损伤,提高心脏功能^[5,6]。本实验室前期研究在离体心肌细胞水平上显示黄芪甲苷对心肌肥大的保护作用与炎症反应有关^[7]。另有研究表明,黄芪甲苷对异丙肾上腺素(isoproterenol,ISO)引起的肥厚型心肌损伤有保护作用^[8,9]。但ISO诱导心肌肥厚过程中能否活化TLR4,是否通过阻断TLR4/NF-κB通路保护心肌组织,国内外尚未见报道。本研究通过ISO制作心肌肥厚模型,探讨黄芪甲苷保护心肌组织中TLR4/NF-κB信号通路的作用。

1 材料和方法

1.1 实验动物、药品和试剂

健康SD大鼠,雌性不限,4~6周龄,体重200±20 g,由辽宁医学院实验动物中心提供,动物合格证号为SCXK(辽)20030007。黄芪甲苷原料药(纯度大于98%,成都康邦生物科技有限公司);ISO、普萘诺尔(美国Sigma公司),肿瘤坏死因子α(tumor necrosis factor-α,TNF-α)和白细胞介素6(interleukin-6,IL-6)、ELISA试剂盒(R&D公司);TLR4、IκBα一抗(北京博奥森生物技术有限公司);p65一抗(美国Proteintech Group公司);Trizol试剂、RT-PCR试剂盒(大连宝生物公司)。其他试剂均为国产分析纯。

1.2 动物模型制备、实验分组及给药方法

SD大鼠60只,随机分为6组,每组10只:正常对照组、ISO组、ISO+黄芪甲苷20 mg/(kg·d)组、ISO+黄芪甲苷40 mg/(kg·d)组、ISO+黄芪甲苷80 mg/(kg·d)组、ISO+普萘诺尔40 mg/(kg·d)组。黄芪甲苷采用1%羧甲基纤维素钠助溶,给药组连续灌胃3周,并于灌胃1天后腹腔注射ISO 5 mg/(kg·d)2周;正常对照组和ISO组大鼠每日给予相同体积的1%羧甲基纤维素钠灌胃,正常对照组腹腔注射相同体积的生理盐水。

1.3 心脏重量参数测定

称大鼠体重,腹腔注射10%乌拉坦1 g/kg,迅速开胸,右心室穿刺取血2 mL,注入冰块冷却的、预先加有肝素的抗凝管中,摇匀,4℃、3000 r/min离心10 min,取上清置于-20℃冰箱保存。抽取血标本后取出心脏,剪去心脏周围的组织和血管,PBS清洗残血,滤纸吸干后称量全心重。沿冠状沟将左心房剪下,沿室间沟将右心室游离去除称量左心室重量(left ventricle weight, LVW),计算心重指数(heart mass index,HMI)和左心室质量指数(left ventricle mass index, LVMI)。将一部分左心室肌标本浸泡于10%中性甲醛缓冲液中固定行病理学检查,剩余的心肌标本于-80℃保存用于生化指标测定。

1.4 左心室心肌细胞横径的测量

横向取甲醛固定好的左心室肌约0.5 cm,乙醇梯度脱水,常规石蜡包埋、切片,HE染色后,光镜下观察心肌组织形态学变化,在400倍视野下观察,每张切片随机选取10个视野,每个视野选5个细胞,所选细胞的胞核位于细胞中央,着色饱满,用Image-PRO Plus软件测每个细胞的面积,取平均值后,计算出其等效面积的圆直径,即为左心室心肌细胞横径(transverse diameter of left ventricular myocardial cells,TDM)平均值。

1.5 RT-PCR检测心肌组织ANP和TLR4 mRNA表达

用Trizol法提取心肌组织总RNA,紫外分光光

度计 A_{260}/A_{280} 鉴定 RNA 纯度和浓度。取约 1 μg 总 RNA,进行逆转录。逆转录条件:30℃ 10 min,42℃ 30 min,95℃ 5 min。以 GAPDH 为内参照,设计引物: GAPDH 上游为 AAT GCA TCC TGC CAC CAC CAA CTG C,下游为 GGA GGC CAT GTA GTA GGC CAT GAG GTC,扩增产物 550 bp;TLR4 上游为 CTA TCA TCA GTG TAT CGG TG,下游为 CAG TCC TCA TTC TGG CTC,扩增产物 186 bp;ANP 上游为 GGG CTC CTT CTC CAT CAC,下游为 CCC TCA GTT TGC TTT TCA,扩增产物 344 bp。通过逆转录合成的 cDNA 1 μL 进行 PCR 扩增。TLR4 的 PCR 反应条件为:94℃ 30 s,57℃ 30 s,72℃ 1 min;ANP 的 PCR 反应条件为:94℃ 45 s,55℃ 50 s,72℃ 75 s。循环扩增结束后,取 10 μL 反应产物进行 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,用凝胶图像分析系统软件对 RT-PCR 产物电泳条带进行密度分析。

1.6 Western blot 测定心肌组织 TLR4、p65 和 I κ B α 蛋白表达

选取心肌组织(约 5 mg)放于无菌 EP 管中,加入 200 μL RIPA 裂解液,剪碎组织后用超声波破碎仪粉碎 30 s,冰上放置 30 min,4℃ 12000 \times g 离心 20 min,提取上清液。BCA 法进行蛋白浓度测定,使上样量相同条件下计算每组应吸取的样品上清的体积,补上样缓冲液至 160 μL ,再加 40 μL 溴酚蓝染液煮沸 4 min。灌胶上样进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶 90 V 恒压电泳,观察 Marker 移动情况,根据所需适时终止电泳。半干法将蛋白转移至硝酸纤维素膜,封闭,洗膜,按照对应分子量切割后分别置于 1:600 稀释的兔抗大鼠 TLR4、p65 和 I κ B α 一抗溶液中,4℃ 杂交过夜,用洗膜液漂洗后加入 1:1000 稀释的二抗,摇床上杂交 1 h,然后取出用洗膜液冲洗,然后加 ECL 显色,上机检测。

1.7 ELISA 检测血清 TNF- α 和 IL-6 含量

在无菌条件下按照 ELISA 试剂盒说明书进行操作,检测前试剂盒平衡于室温 20℃ ~ 25℃ 待用,取出 96 孔反应板,分别加入 50 μL 标准品、40 μL 待测样品(1.3 步骤中的血清标本)于反应孔里,吸取 10 μL 抗体至待测样品孔里,37℃ 孵育 1 h,倒出液体,洗板 3 次,加入显色液 A 和 B,室温孵育 10 min,每孔加入终止液。全自动酶标仪在 450 nm 波长读取吸光度值,绘制标准曲线,根据各标本吸光度值在标准曲线上查得相应的浓度。

1.8 统计学方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间显著性检验采用单因素方差分析和 LSD 法。

2 结 果

2.1 HMI 和 LVMI 的变化

与正常对照组比较,ISO 组 HMI 增加了 38.55%,LVMI 增加了 40.41%,差异有统计学意义($P < 0.01$),表明模型制备成功。与 ISO 组相比,黄芪甲苷 80 $\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 和普萘洛尔 40 $\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 能够抑制 HMI 和 LVMI 的增加($P < 0.01$),但二者之间无明显差别($P > 0.05$)。黄芪甲苷 20 $\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 干预对 ISO 诱导所致的 HMI 和 LVMI 增大无明显抑制作用($P > 0.05$);黄芪甲苷 40 $\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 干预虽可使 HMI 和 LVMI 低于 ISO 组,但亦明显高于正常对照组($P < 0.05$)。说明黄芪甲苷可以抑制 ISO 引起的心肌肥厚(表 1)。

表 1. 黄芪甲苷对大鼠 HMI 和 LVMI 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 1. Effects of astragaloside IV on HMI and LVMI in myocardial hypertrophy rats

分 组	HMI(mg/g)	LVMI(mg/g)
正常对照组	2.62 \pm 0.18	1.93 \pm 0.19
ISO 组	3.63 \pm 0.20 ^a	2.71 \pm 0.33 ^a
ISO + 黄芪甲苷 20 mg/(kg · d) 组	3.48 \pm 0.25	2.59 \pm 0.24 ^a
ISO + 黄芪甲苷 40 mg/(kg · d) 组	2.96 \pm 0.19 ^b	2.38 \pm 0.18 ^b
ISO + 黄芪甲苷 80 mg/(kg · d) 组	2.67 \pm 0.20 ^c	1.99 \pm 0.18 ^c
ISO + 普萘洛尔 40 mg/(kg · d) 组	2.64 \pm 0.22 ^c	1.96 \pm 0.17 ^c

a 为 $P < 0.01$,与正常对照组比较;b 为 $P < 0.01$,与 ISO 组比较;c 为 $P < 0.01$,与 ISO + 黄芪甲苷 20 $\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 组比较。

2.2 心肌组织病理学改变

与正常对照组相比,ISO 组单个心肌细胞增粗,横截面积明显增大,TDM 增加了 29.82%。与 ISO 组相比,黄芪甲苷 80 $\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 和普萘洛尔 40 $\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 干预后 TDM 减小了 22.22%、22.43% ($P < 0.01$);黄芪甲苷 20 $\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 干预后单个心肌细胞截面无显著改变,略低于 ISO 组($P > 0.05$);黄芪甲苷 40 $\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 干预后 TDM 虽然比 ISO 组减少($P < 0.05$),但仍高于正常对照组(图 1 和表 2)。

表 2. 黄芪甲苷对大鼠 TDM 的影响($\bar{x} \pm s, n = 20$)
Table 2. Effects of astragaloside IV on TDM in myocardial hypertrophy rats

分 组	TDM(μm)
正常对照组	14.52 \pm 1.70
ISO 组	18.95 \pm 2.63 ^a
ISO + 黄芪甲苷 20 mg/(kg · d) 组	17.56 \pm 2.32
ISO + 黄芪甲苷 40 mg/(kg · d) 组	16.05 \pm 3.13 ^b
ISO + 黄芪甲苷 80 mg/(kg · d) 组	14.74 \pm 1.92 ^c
ISO + 普萘洛尔 40 mg/(kg · d) 组	14.70 \pm 2.05 ^c

a 为 $P < 0.01$,与正常对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与 ISO 组比较;c 为 $P < 0.05$,与 ISO + 黄芪甲苷 20 $\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 组比较。

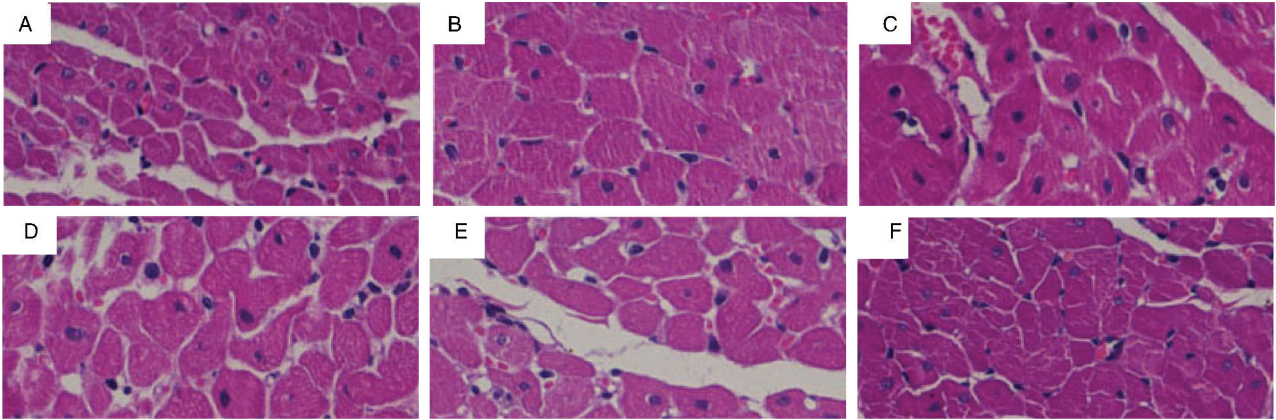


图 1. 黄芪甲苷对大鼠左心室心肌组织病理形态学的影响 (HE × 400) A 为正常对照组, B 为 ISO 组, C 为 ISO + 黄芪甲苷 20 mg/(kg · d) 组, D 为 ISO + 黄芪甲苷 40 mg/(kg · d) 组, E 为 ISO + 黄芪甲苷 80 mg/(kg · d) 组, F 为 ISO + 普萘洛尔 40 mg/(kg · d) 组。

Figure 1. Effects of astragaloside IV on pathomorphology in rat left ventricular tissue

2.3 黄芪甲苷对心肌组织 ANP 和 TLR4 mRNA 表达的影响

与正常对照组相比,ISO 组 ANP 和 TLR4 mRNA 的表达分别增加了 74.32%、33.14%。与 ISO 组相比,黄芪甲苷 80 mg/(kg · d) 干预后 ANP 和 TLR4 mRNA 的表达分别减少了 40.68%、26.82% ($P <$

0.01); 普萘洛尔 40 mg/(kg · d) 干预后 ANP 和 TLR4 mRNA 的表达分别减少了 41.92%、25.59% ($P <$ 0.01); 黄芪甲苷 20 mg/(kg · d) 干预后 ANP 和 TLR4 mRNA 的表达降低,但无统计学意义 ($P >$ 0.05); 黄芪甲苷 40 mg/(kg · d) 干预后 ANP 和 TLR4 mRNA 的表达降低 ($P <$ 0.05; 图 2)。

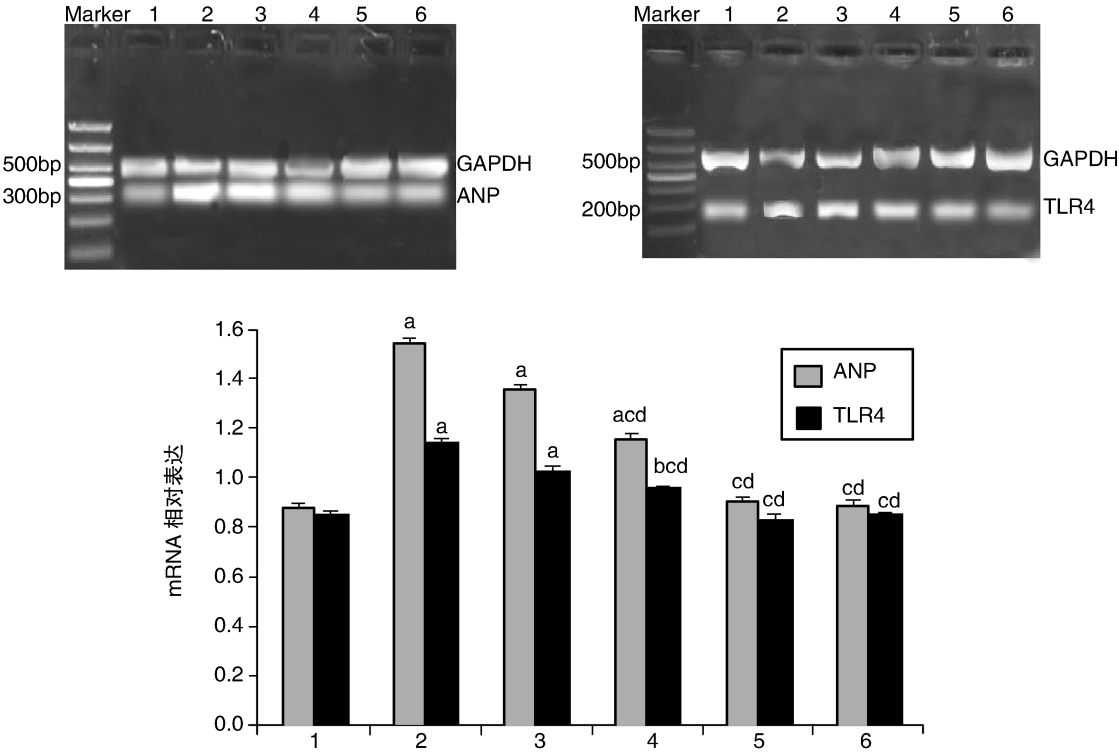


图 2. 黄芪甲苷对大鼠心肌组织 ANP 和 TLR4 mRNA 表达的影响 ($n = 10$) 1 为正常对照组, 2 为 ISO 组, 3 为 ISO + 黄芪甲苷 20 mg/(kg · d) 干预后, 4 为 ISO + 黄芪甲苷 40 mg/(kg · d) 组, 5 为 ISO + 黄芪甲苷 80 mg/(kg · d) 组, 6 为 ISO + 普萘洛尔 40 mg/(kg · d) 组。a 为 $P <$ 0.05, b 为 $P <$ 0.01, 与正常对照组比较; c 为 $P <$ 0.01, 与 ISO 组比较; d 为 $P <$ 0.01, 与 ISO + 黄芪甲苷 20 mg/(kg · d) 组比较。

Figure 2. Effects of astragaloside IV on ANP and TLR4 expression in myocardial tissue of rats

2.4 黄芪甲苷对心肌组织 TLR4、p65 和 IκBα 蛋白表达的影响

与正常对照组相比,ISO 组 TLR4、p65 的表达分别增加了 28.73%、22.73%,IκBα 的表达减少了 36.07%。与 ISO 组相比,黄芪甲苷 80 mg/(kg·d) 干预后 TLR4、p65 的表达分别减少了 23.21%、16.30%,IκBα 的表达增加了 53.84%;普萘洛尔 40

mg/(kg·d) 干预后 TLR4、p65 的表达分别减少了 22.32%、16.30%,IκBα 的表达增加了 52.56%,差别有统计学意义 ($P < 0.01$);黄芪甲苷 20 mg/(kg·d) 干预后 TLR4、p65 的表达分别降低,IκBα 的表达增加,但无统计学意义 ($P > 0.05$);黄芪甲苷 40 mg/(kg·d) 干预后 TLR4、p65 的表达分别降低,IκBα 的表达增加 ($P < 0.05$;图 3)。

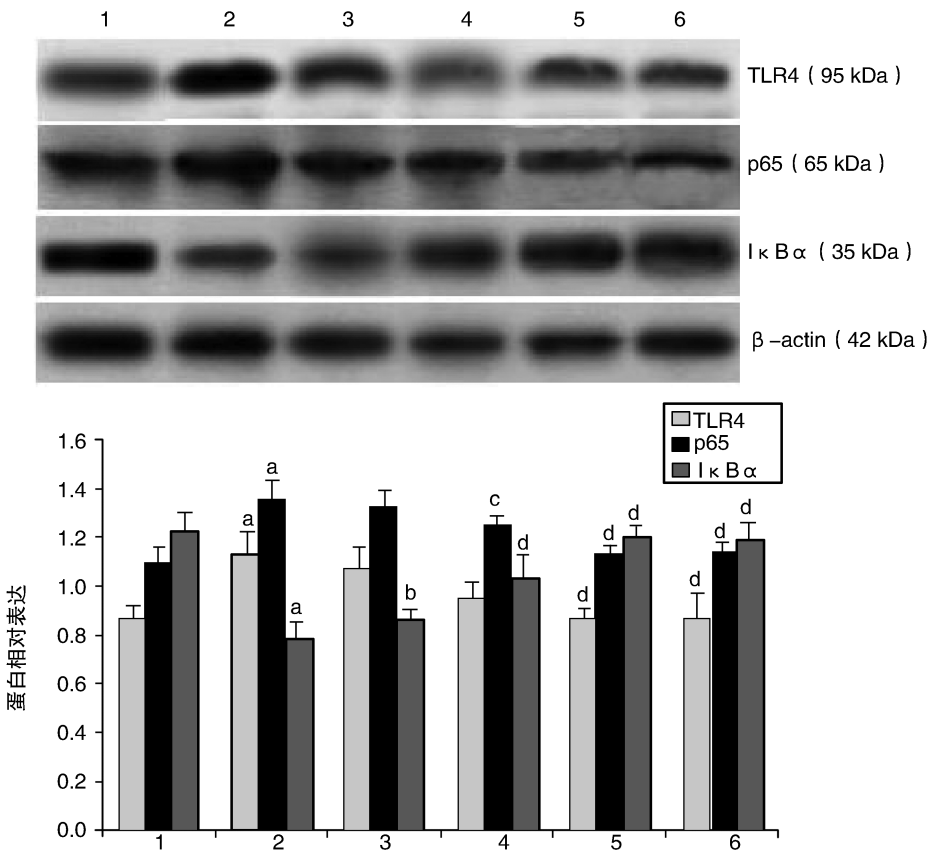


图 3. 黄芪甲苷对大鼠心肌组织 TLR4、p65 和 IκBα 蛋白表达的影响($n = 10$) 1 为正常对照组,2 为 ISO 组,3 为 ISO + 黄芪甲苷 20 mg/(kg·d) 组,4 为 ISO + 黄芪甲苷 40 mg/(kg·d) 组,5 为 ISO + 黄芪甲苷 80 mg/(kg·d) 组,6 为 ISO + 普萘洛尔 40 mg/(kg·d) 组。a 为 $P < 0.01$,与正常对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与 ISO 组比较;c 为 $P < 0.05$,d 为 $P < 0.01$,与 ISO + 黄芪甲苷 20 mg/(kg·d) 组比较。

Figure 3. Effects of astragaloside IV on TLR4, p65 and IκBα expression in myocardial tissue of rats

2.5 黄芪甲苷对大鼠血清中 TNF-α、IL-6 水平的影响

ISO 组大鼠血清中 TNF-α、IL-6 水平较正常对照组大鼠明显增加 ($P < 0.01$)。与 ISO 组相比,黄芪甲苷 80 mg/(kg·d)、黄芪甲苷 40 mg/(kg·d) 和普萘洛尔 40 mg/(kg·d) 干预后能够明显减少大鼠血清中 TNF-α、IL-6 的水平 ($P < 0.01$),黄芪甲苷 80 mg/(kg·d) 干预与黄芪甲苷 40 mg/(kg·d) 干预相比 TNF-α、IL-6 水平无明显差别 ($P > 0.05$);TNF-α、IL-6 的水平随着黄芪甲苷的剂量递增而呈递减趋势(表 3)。

表 3. 黄芪甲苷对大鼠血清中 TNF-α、IL-6 水平的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 3. Effects of astragaloside IV on TNF-α and IL-6 levels in serum of rats

分 组	TNF-α (ng/L)	IL-6 (ng/L)
正常对照组	25.9 ± 3.5	69.0 ± 3.6
ISO 组	109.9 ± 5.6 ^b	134.1 ± 5.3 ^b
ISO + 黄芪甲苷 20 mg/(kg·d) 组	98.7 ± 3.7 ^b	123.5 ± 6.1 ^b
ISO + 黄芪甲苷 40 mg/(kg·d) 组	66.0 ± 6.2 ^{bde}	88.3 ± 3.1 ^{ace}
ISO + 黄芪甲苷 80 mg/(kg·d) 组	30.3 ± 5.2 ^{de}	74.7 ± 4.5 ^{de}
ISO + 普萘洛尔 40 mg/(kg·d) 组	34.3 ± 2.4 ^{de}	77.0 ± 7.6 ^{de}

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$,与正常对照组比较;c 为 $P < 0.05$,d 为 $P < 0.01$,与 ISO 组比较;e 为 $P < 0.01$,与 ISO + 黄芪甲苷 20 mg/(kg·d) 组比较。

3 讨 论

心肌肥厚是许多心脏疾病发展的一个重要阶段,炎症因子与心肌肥厚的发展密切相关,动物实验证实,促炎细胞因子 TNF- α ^[10]、IL-6^[11] 均能直接影响心肌收缩功能,并导致慢性心力衰竭。也有研究表明抑制心脏的炎症反应可以有效防止心肌肥厚并减缓心衰的发展^[12]。因此,通过抑制心肌炎症反应,降低炎症因子的释放,对心肌肥厚的研究和防治具有重要的意义。TLR4/NF- κ B 信号传导通路的活化介导了众多炎症因子的表达,而这些炎症因子参与了心肌损伤的炎症反应^[4],Smeets 等^[13]研究也表明 NF- κ B 在炎症和心肌肥厚的信号通路中起整合作用,是炎症和心肌肥厚的共同通路。所以研究此炎症信号传导通路在 ISO 诱导心肌肥厚中的作用具有重要意义。

以往的研究表明黄芪甲苷能通过增加心肌 NO 的合成并抑制成纤维细胞增殖^[9],降低细胞内钙超载及改善能量代谢^[14]抑制 ISO 诱导心肌肥厚。本研究结果发现,ISO 组大鼠 HMI 和 LVMI 明显增加,心肌组织 HE 染色发现心肌细胞增粗,横截面积明显增大,TDM 明显增加,心肌肥厚基因 ANP mRNA 的表达显著增加,而黄芪甲苷 80 mg/(kg · d)可有效对抗这种改变。ELISA 检测显示,ISO 能引起大鼠血清中 TNF- α 、IL-6 增高,黄芪甲苷能够有效地抑制炎症因子 TNF- α 、IL-6 的分泌,保护心脏。通过 Western blot 和 RT-PCR 对心肌组织 TLR4、p65 和 IkB α 蛋白水平和 TLR4 mRNA 水平半定量的检测结果来看,TLR4、p65 蛋白及 TLR4 mRNA 在 ISO 组左心室心肌细胞中表达上调,而 IkB α 蛋白表达降低。而黄芪甲苷可以抑制 ISO 引起的 TLR4、p65 的表达增加,抑制 IkB α 的降解,提示黄芪甲苷可能通过抑制 TLR4/NF- κ B 信号传导通路的激活来减轻心肌肥厚程度和炎症反应。

综合本研究结果,ISO 可以导致心肌结构的改变以及炎症因子的增加,而黄芪甲苷可以减轻 ISO 所致心肌损伤,减轻血清中炎症因子水平,其机制可能与抑制 TLR4/NF- κ B 信号传导通路的激活有关。 β 肾上腺素受体阻滞剂普萘洛尔是临床上公认的用于心血管疾病的有效药物,普萘洛尔作为黄芪甲苷的阳性对照药能明显抑制 ISO 诱导心肌肥厚所产生的炎症因子。黄芪甲苷 80 mg/(kg · d)同普萘洛尔 40 mg/(kg · d)在抑制 ISO 诱导心肌肥厚中的

作用无明显差别,但黄芪甲苷用于临床心血管疾病的治疗还有待临床试验的进一步证实。

[参考文献]

[1] Kang YJ. Cardiac hypertrophy: a risk factor for QT-prolongation and cardiac sudden death[J]. Toxicol Pathol, 2006, 34 (1): 58-66.

[2] Murray DR, Prabhu SD, Chandrasekar B. Chronic beta-adrenergic stimulation induces myocardial proinflammatory cytokine expression [J]. Circulation, 2000, 101 (20): 2 338-341.

[3] Serra AJ, Santos MH, Bocalini DS, et al. Exercise training inhibits inflammatory cytokines and more than prevents myocardial dysfunction in rats with sustained β -adrenergic hyperactivity[J]. J Physiol, 2010, 588 (Pt 13): 2 431-442.

[4] Avlas O, Fallach R, Shainberg A, et al. Toll-like receptor 4 stimulation initiates an inflammatory response that decreases cardiomyocyte contractility[J]. Antioxid Redox Signal, 2011, 15 (7): 1 895-909.

[5] Shi H, Ma C, Liu Y, et al. Inhibitory effect on activated renin-angiotensin system by astragaloside IV in rats with pressure-overload induced cardiac hypertrophy [J]. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi, 2009, 34 (24): 3 242-246.

[6] Chen P, Xie Y, Shen E, et al. Astragaloside IV attenuates myocardial fibrosis by inhibiting TGF- β 1 signaling in coxsackievirus B3-induced cardiomyopathy [J]. Eur J Pharmacol, 2011, 658 (2-3): 168-174.

[7] 顾洁莹,王洪新,赵素玲. 黄芪甲苷抑制肿瘤坏死因子 α 诱导的乳大鼠心肌细胞肥大[J]. 中华高血压杂志, 2012, 20 (9): 838-842.

[8] 许晓乐,季 晖,谷舒怡,等. 黄芪甲苷对异丙肾上腺素所致小鼠心肌肥厚的保护作用[J]. 中国医科大学学报, 2007, 38 (5): 451-455.

[9] 王 建,刘佳骅,姚 鹏. 黄芪甲苷对异丙肾上腺素诱导心肌损伤的保护作用[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2007, 27 (4): 384-386.

[10] Shaw SM, Shah MK, Williams SG, et al. Immunological mechanisms of pentoxifylline in chronic heart failure[J]. Eur J Heart Fail, 2009, 11 (2): 113-118.

[11] Yu XW, Chen Q, Kennedy RH, et al. Inhibition of sarcoplasmic reticular function by chronic interleukin-6 exposure via NOS in adult ventricular myocytes[J]. J Physiol, 2005, 566 (Pt 2): 327-340.

[12] Gupta S, Young D, Maitra RK, et al. Prevention of cardiac hypertrophy and heart failure by silencing of NF- κ B[J]. J Mol Biol, 2008, 375 (3): 637-649.

[13] Smeets PJ, Teunissen BE, Planavila A, et al. Inflammatory pathways are activated during cardiomyocyte hypertrophy by Peroxisome proliferator-activated Receptors PPAR α and PPAR δ [J]. J Biol Chem, 2008, 283 (43): 29 109-118.

[14] 王秋宁,王洪新. 黄芪甲苷对异丙肾上腺素诱导心肌肥厚的保护作用. 辽宁医学院硕士研究生学位论文, 2011.

(此文编辑 文玉珊)