

石斛碱抑制高钠盐诱导的心脏成纤维细胞增殖

刘婵¹, 刘娟¹, 商黔惠^{1,2}

(遵义医学院附属医院 1.临床医学研究所 心血管病研究所 高血压研究室, 2.心血管内科, 贵州省遵义市 563003)

[关键词] 高钠盐; 心脏成纤维细胞; 石斛碱; 细胞增殖

[摘要] **目的** 探讨高钠盐诱导心脏成纤维细胞(CF)增殖的作用机制及石斛碱的干预效应。**方法** 体外组织块贴壁法培养大鼠 CF, 实验分为 3 组: 对照组(139 mmol/L Na⁺)、高钠盐组(161 mmol/L Na⁺)、石斛碱组(161 mmol/L Na⁺+10⁻⁵ mol/L 石斛碱), 培养 48 h。CCK-8 细胞增殖试剂盒与 MTT 比色法检测各组细胞增殖情况; Western blot 检测细胞增殖细胞核抗原(PCNA)、磷酸化细胞外调节蛋白激酶 1/2(p-ERK1/2)、磷酸化核因子 κB p65(p-NF-κB p65)蛋白表达水平; 实时荧光定量 PCR 检测细胞单核细胞趋化蛋白 1(MCP-1)、血管细胞黏附分子 1(VCAM-1)、细胞间黏附分子 1(ICAM-1)mRNA 表达水平。**结果** 与对照组比较, 高钠盐组培养 48 h 后, CF 增殖明显增加; 与高钠盐组相比, 10⁻⁵ mol/L 石斛碱显著抑制 CF 增殖。与对照组相比, 高钠盐组 CF 中 p-ERK1/2、p-NF-κB p65 蛋白表达增高, 炎症因子 MCP-1、VCAM-1 和 ICAM-1 mRNA 表达增加; 与高钠盐组相比, 石斛碱可明显降低 PCNA、p-NF-κB p65 蛋白表达及 MCP-1 mRNA 表达, 但对 p-ERK1/2、VCAM-1 和 ICAM-1 表达无明显影响。**结论** 高钠盐诱导 CF 增殖及炎症因子表达, 其机制与 p-ERK1/2、p-NF-κB p65 表达上调有关; 石斛碱抑制上述效应, 其机制与抑制 p-NF-κB p65 有关。

[中图分类号] R96

[文献标识码] A

The effect of dendrobine on the proliferation of cardiac fibroblasts induced by high sodium

LIU Chan¹, LIU Juan¹, SHANG Qian-Hui^{1,2}

(1. Institute of Clinical Medicine & Institute of Cardiovascular Disease & Hypertension Laboratory, 2. Cardiovascular Department, the Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi, Guizhou 563003, China)

[KEY WORDS] High sodium; Cardiac fibroblast; Dendrobine; Proliferation

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the mechanism of high sodium salt induced proliferation of cardiac fibroblasts (CFs) and the intervention effect of dendrobine. **Methods** Rat CFs were cultured with tissue explant method in vitro. The experiments were divided into 3 groups: control group (containing 139 mmol/L Na⁺), high sodium salt group (containing 161 mmol/L Na⁺), dendrobine group (161 mmol/L Na⁺+10⁻⁵ mol/L dendrobine), and cells were cultured for 48 hours. CCK-8 cell proliferation kit and MTT colorimetric assay were used to detect the proliferation of cells in each group. The protein expressions of proliferating cell nuclear antigen (PCNA), phosphorylated extracellular regulated protein kinase 1/2 (p-ERK1/2) and phosphorylated nuclear factor κB p65 (p-NF-κB p65) were detected by Western blot assay. The mRNA expressions of monocyte chemotactic protein 1 (MCP-1), vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1) and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) were detected by real-time fluorescence quantitative PCR. **Results** Compared with the control group, the proliferations of CFs in the high sodium salt group were significantly increased after 48 hours culture. Compared with the high sodium salt group, 10⁻⁵ mol/L dendrobine could significantly inhibit the proliferation of CFs. Compared with the control group, the protein expressions of p-ERK1/2 and p-NF-κB p65 were increased, inflammatory factors MCP-1, VCAM-1 and ICAM-1 mRNA expressions were increased in high sodium salt group. Compared with the high sodium salt group, dendrobine could significantly reduce the expressions of PCNA and p-NF-κB p65 proteins and

[收稿日期] 2017-02-17

[修回日期] 2017-04-28

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81460077); 黔科合重大专项字[2015]6010; 贵州省国际科技合作计划[G字(2012)7038号]; 贵州省科技厅联合资金项目[黔科合J字LKZ(2011)34号]

[作者简介] 刘婵, 实验师, 研究方向为高血压及其靶器官损害, E-mail 为 zmcliuchan@163.com。通讯作者商黔惠, 教授, 硕士生导师, 研究方向为高血压的发病机制及其靶器官损害, E-mail 为 qhshang60@126.com。

the expression of MCP-1 mRNA, but had no significant effect on the expressions of p-ERK1/2, VCAM-1 and ICAM-1.

Conclusion High sodium salt induces the proliferation of CFs and the expression of inflammatory factors, and its mechanism is related to the upregulation of p-ERK1/2 and p-NF- κ B p65 expressions. Dendrobine inhibits these effects and its mechanism is related to the inhibition of p-NF- κ B p65.

我国是一个高血压大国,也是一个高盐饮食的国家,用盐量居世界之首。我国居民盐摄入量比较高,每日每人盐摄入量平均达到 12 g 水平,超过世界卫生组织推荐的 5 g 食盐摄入标准。高盐摄入可独立于血压升高引起心、肾、血管和大脑等一系列损伤。高盐饮食可引发盐敏感大鼠局部组织(心脏、肾脏、血管等)炎症反应、纤维化及器官损伤^[1-3]。4%、8%高钠盐喂养 Wistar 大鼠 18~24 周后,还可独立于血压直接引起心肌肥大及心肌间质纤维化^[4-5]。心脏成纤维细胞(cardiac fibroblast, CF)增殖和细胞外基质过度沉积,是导致心肌纤维化的重要环节。盐摄入增加可引起血钠的对应改变,正常血压者每天摄盐量从 10 mmol 增至 250 mmol,可引起血钠增加 3.13 ± 0.75 mmol/L^[6-7]。体外研究发现,高钠盐可直接引起血管平滑肌细胞增殖,血管平滑肌细胞、心肌细胞肥大^[8-9],然而高钠盐直接对 CF 增殖的影响,尚未见细胞水平的报道。现代药理研究表明石斛属植物具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、免疫调节、扩张血管等作用,在临床上也有较广泛的应用;石斛碱是从中提取的一种倍半萜类生物碱,是金钗石斛的主要有效成分之一。在石斛碱具有降低血压、抗氧化和扩张血管等对心血管系统积极作用的基础上^[10-11],进一步研究其对 CF 增殖的影响,无疑具有重要意义。因此,本研究采用新生大鼠 CF 为研究对象,以高钠盐为诱导因子建立成纤维细胞增殖模型,首次在细胞水平观察探讨石斛碱是否抑制成纤维细胞增殖及其发挥作用的可能的分子机制。

1 材料和方法

1.1 材料

雄性、雌性成年健康 Wistar 大鼠,由重庆市第三军医大学大坪医院实验动物中心提供,许可证号:SCXK-(渝)20012-0005。将雌雄大鼠配种后,1~3 天龄 Wistar 乳鼠,雌雄不拘。实验动物经过遵义医学院动物实验伦理会审查(编号:伦审[2016]2-067 号),本实验方案遵循动物福利和伦理原则,符合伦理规范要求。

DMEM 购于美国 Gibco 公司;胎牛血清购自美

国 Gibco 公司;CCK-8 细胞增殖试剂盒购自中国凯基生物公司;增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen,PCNA)一抗购自美国 Abcam 公司;磷酸化核因子 κ B p65(phosphorylated nuclear factor- κ B p65,p-NF- κ B p65)一抗购自美国 Santa Cruz 公司;磷酸化细胞外调节蛋白激酶 1/2(phosphorylated extracellular regulated protein kinase 1/2,p-ERK1/2)一抗购自 Cell Signaling 公司,二抗购自美国 Proteintech 公司;单核细胞趋化蛋白 1(monocyte chemotactic protein-1,MCP-1)、血管细胞黏附分子 1(vascular cell adhesion molecule-1,VCAM-1)、细胞间黏附分子 1(intercellular adhesion molecule-1,ICAM-1)引物购自大连宝生物公司。

1.2 乳鼠 CF 原代及传代培养

取新生 1~3 天的 Wistar 乳鼠处死,置于 75%乙醇中浸泡消毒,取出心脏迅速置于平衡盐溶液(D-PBS)中,清洗心脏去除结缔组织。在培养皿中将心脏剪成约 1 mm³ 组织块,并贴于培养瓶底部,每块组织之间间隔约 0.5 cm,铺满培养瓶底部后加入 3 mL 含 12% 胎牛血清的 DMEM,直立置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养,放置 2~3 h 后将培养瓶翻转平放,使培养液完全浸没组织块,继续培养。待细胞生长至 80% 融合时用 0.25% 胰蛋白酶消化,进行传代培养。实验用第 2~4 代细胞。

1.3 实验分组及给药

将培养的 CF 分为以下 3 组:(1)对照组:Na⁺浓度为 139 mmol/L;(2)高钠盐组:Na⁺浓度为 149、152、155、158、161、164、167、170、173、176 mmol/L,梯度为 3 mmol/L;(3)石斛碱组:高钠盐+石斛碱(10^{-8} ~ 10^{-4} mol/L),分别培养 24、48 h。

1.4 CCK-8 法检测高钠盐对 CF 增殖的影响

CF 按 5×10^7 /L 密度接种于 96 孔板中培养,每孔 100 μ L,各组均设置 6 个复孔,于 37℃ 孵箱培养,待细胞贴壁伸展开后,无血清 DMEM 同步化处理 24 h,按上述分组加入处理因素继续培养 24、48 h 后,向各孔中加入 CCK-8 10 μ L,混匀后 37℃ 孵育 4 h。选择 450 nm 波长,在酶联免疫检测仪上测定各孔吸光度(absorbance,A)值。

1.5 CCK-8 法检测渗透压对大鼠 CF 增殖的影响

CF 接种同“1.4”,分为对照组(Na⁺浓度为

139 mmol/L)、高钠盐组(Na^+ 浓度为 161 mmol/L)、甘露醇组(甘露醇浓度为 29.33 g/L,与 161 mmol/L Na^+ 等渗,渗透压为 803.5 kPa),培养 48 h,检测方法同“1.4”。

1.6 MTT 比色法检测石斛碱对高钠盐致 CF 增殖的影响

将含 10% 胎牛血清培养基的细胞悬液以 $7 \times 10^7/\text{L}$ 接种于 96 孔板,每孔 100 μL ,无血清培养基同步化 24 h。高钠盐、石斛碱干预 48 h 后弃去培养液,每孔加入 MTT 溶液 20 μL 以及含 10% 胎牛血清培养基 180 μL ,继续孵育 4 h,终止培养,小心吸弃孔内培养上清液。每孔加 150 μL 二甲基亚砜,震荡 10 min,使结晶物充分溶解。选择 490 nm 波长,在酶联免疫检测仪上测定各孔 A 值,记录结果并计算细胞增殖率。

1.7 Western blot 检测各组 CF 中 PCNA、p-ERK 和 p-NF- κB p65 蛋白表达

配制 10% 的分离胶及 4% 的浓缩胶,将 40 μg 总蛋白加至上样孔中,80 V 恒压电泳,待样品进入分离胶后电压调节至 100 V,当溴酚兰指示剂到达胶板的底部停止电泳。取出凝胶,8 W 恒功率冰浴电转 4 h,把蛋白转移到聚偏二氟乙烯膜上。聚偏二氟乙烯膜用 5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h, TBST 洗后,用特异性抗体进行孵育,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜。经 TBST 冲洗后加入辣根过氧化物酶标记的二抗室温孵育 1 h。TBST 冲洗后,将 ECL 化学发光试剂加在膜表面后,放入 Bio-Rad 凝胶成像仪中,选择化学发光,开始曝光,用 Image Lab 行图像分析,得出蛋白积分光密度,目的蛋白相对量=目的蛋白积分光密度/内参积分光密度。

1.8 实时荧光定量 PCR 检测各组 CF 中 MCP-1、VCAM-1、ICAM-1 mRNA 的表达

按照“1.3”分组将细胞接种于 25 mL 培养瓶中,融合度为 90% 左右时同步化处理 24 h 后分别加入各处理因素,培养 48 h 后用 RNA 提取试剂盒提取 RNA,紫外分光光度计测定样本的 $A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}}$ 及浓度。 $A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}}$ 为 1.8~2.0 认为 RNA 纯度符合要求。将样本统一稀释为 50 $\mu\text{g}/\text{L}$,以 10 μL 逆转录反应体系逆转录合成 cDNA 后,进行实时荧光定量 PCR,结果以目的基因/GAPDH 的比值进行统计分析。PCR 引物序列,MCP-1:上游 5'-TAGCATCCACGTGCTGTCTC-3',下游 5'-CCGACTCATTGGGATCATCT-3',扩增产物 349 bp;VCAM-1:上游 5'-ACACCTCCCCAAGAATACAG-3',下游 5'-GCTCATCCTCAACACCCACAG-3',扩增产物 425 bp;ICAM-1:上游 5'-GGCGTCCATTTACACCTATTA-3',下游 5'-TTCCITTTCT-

TCTCTTGCTTG-3',扩增产物 413 bp;GAPDH:上游 5'-AT-TGTCAGCAATGCATCCTG-3',下游 5'-ATGGACTGTGGT-CATGAGCC-3',扩增产物 342 bp。

1.9 统计学处理

计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 17.0 软件包对实验数据进行统计分析,两组定量资料比较采用 t 检验,3 组间比较采用单因素方差分析和两两比较, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 高钠盐诱导 CF 增殖最佳浓度

CCK-8 检测结果表明:与对照组(139 mmol/L Na^+)比较,用不同浓度高钠盐培养基(149 ~ 176 mmol/L Na^+)培养 CF 48 h,可引起 CF 增殖,差异具有统计学意义($P < 0.05$),其中高钠盐培养基 Na^+ 浓度为 161 mmol/L 时,诱导 CF 增殖效应最明显(表 1);但用不同浓度高钠盐培养基培养 CF 24 h,细胞增殖没有显著性差异($P > 0.05$)。据此结果,选用 161 mmol/L Na^+ 的培养基作为高钠盐组进行后续实验。渗透压对 CF 增殖影响的实验结果显示,与对照组比较,甘露醇组细胞活性未见明显变化(表 2)。

表 1. 高钠盐对 CF 增殖的影响($n=4$)

Table 1. Effect of high sodium on the proliferation of CF ($n=4$)

分 组	Na^+ 浓度 (mmol/L)	$A_{450\text{nm}}$	
		24 h	48 h
对照组	139	0.437 \pm 0.042	0.462 \pm 0.026
高钠盐组	149	0.526 \pm 0.048	0.721 \pm 0.099 ^a
	152	0.599 \pm 0.047	0.815 \pm 0.054 ^a
	155	0.625 \pm 0.038	0.819 \pm 0.057 ^a
	158	0.621 \pm 0.029	0.864 \pm 0.041 ^a
	161	0.607 \pm 0.098	0.869 \pm 0.028 ^a
	164	0.592 \pm 0.057	0.812 \pm 0.019 ^a
	167	0.632 \pm 0.076	0.815 \pm 0.033 ^a
	170	0.641 \pm 0.042	0.797 \pm 0.051 ^a
	173	0.617 \pm 0.031	0.779 \pm 0.029 ^a
	176	0.522 \pm 0.054	0.700 \pm 0.075 ^a

a 为 $P < 0.05$,与对照组比较。

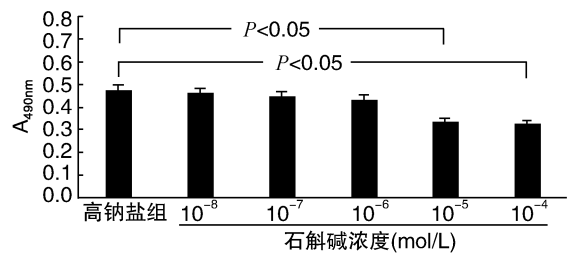
表 2. 渗透压对 CF 增殖的影响 ($n=6$)Table 2. Effect of osmotic pressure on the proliferation of CF ($n=6$)

分 组	Na ⁺ 或甘露醇浓度	A _{450 nm}
对照组	139 mmol/L Na ⁺	0.977±0.064
高钠盐组	161 mmol/L Na ⁺	1.214±0.154 ^a
甘露醇组	29.33 g/L 甘露醇	0.886±0.119

a 为 $P<0.05$, 与对照组比较。

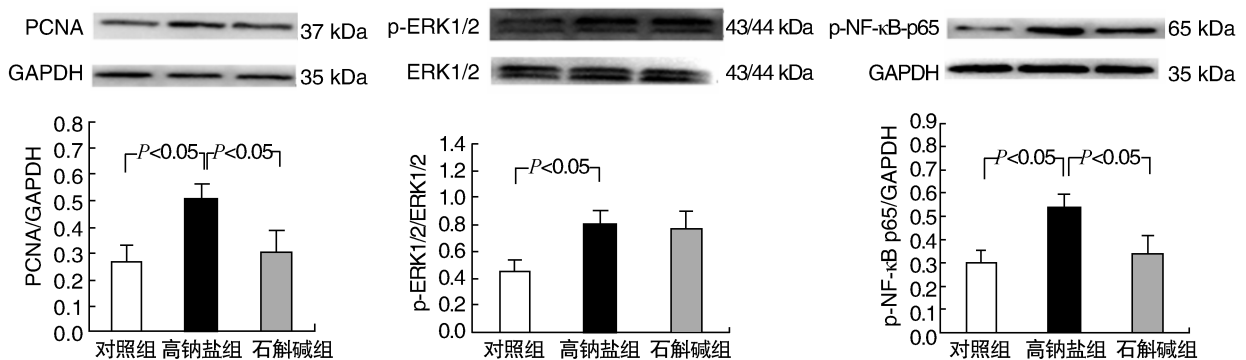
2.2 石斛碱抑制高钠盐诱导 CF 增殖的最佳浓度

通过 MTT 法观察不同浓度石斛碱对高钠盐诱导的 CF 增殖的影响, 与高钠盐组相比, 石斛碱浓度为 10^{-8} ~ 10^{-6} mol/L 时, CF 活性无明显影响 ($P>0.05$), 石斛碱浓度增加到 10^{-5} 、 10^{-4} mol/L 时, CF 细胞活性明显降低 ($P<0.05$), 其中石斛碱浓度为 10^{-5} mol/L 时, 抑制 CF 细胞活性效应最明显 (图 1)。据此结果, 选用 10^{-5} mol/L 石斛碱进行后续实验。

图 1. 不同浓度石斛碱对高钠盐诱导 CF 增殖的影响 ($n=6$)Figure 1. Effect of dendrobine on the proliferation of CF induced by high sodium ($n=6$)

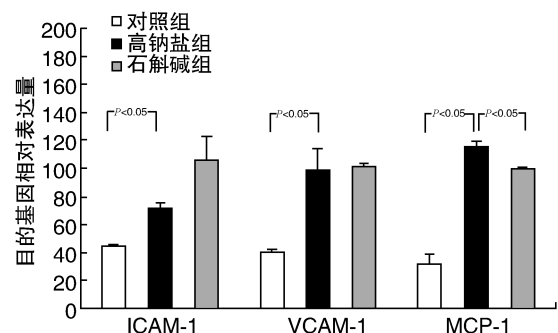
2.3 高钠盐对 CF 中 PCNA、p-ERK1/2 和 p-NF-κB p65 蛋白表达的影响及石斛碱的干预作用

Western blot 结果显示, 与对照组相比, 高钠盐组 PCNA、p-ERK1/2 和 p-NF-κB p65 蛋白表达显著增加 ($P<0.05$); 与高钠盐组相比, 石斛碱组 PCNA、p-NF-κB p65 蛋白表达降低 ($P<0.05$), 而 p-ERK1/2 表达无明显变化 ($P>0.05$; 图 2)。

图 2. 高钠盐对 CF 中 PCNA、p-ERK1/2 和 p-NF-κB p65 蛋白表达的影响及石斛碱的干预作用 ($n=6$)Figure 2. Effect of high sodium on the expression of PCNA, p-ERK1/2 and p-NF-κB p65 PCNA in CF and protective effect of dendrobine ($n=6$)

2.4 高钠盐对 CF 中 ICAM-1、VCAM-1 和 MCP-1 基因表达的影响及石斛碱的干预作用

实时荧光定量 PCR 结果显示, 与对照组相比, 高钠盐组 ICAM-1、VCAM-1 和 MCP-1 的 mRNA 表达显著增加 ($P<0.05$); 与高钠盐组相比, 石斛碱组 MCP-1 的 mRNA 表达降低 ($P<0.05$), 而 ICAM-1、VCAM-1 表达无明显变化 ($P>0.05$; 图 3)。

图 3. 高钠盐对 CF 中炎症因子 mRNA 表达的影响及石斛碱的干预作用 ($n=6$)Figure 3. Effect of high sodium on the mRNA expression of inflammatory factor in CF and protective effect of dendrobine ($n=6$)

3 讨 论

盐是导致心血管疾病发生的重要环境因素之一。流行病学调查发现每天多进食 100 mmol 的盐可增加脑卒中发生率 83%, 冠心病及心血管疾病发

生率分别增加 51%、45%^[12-13]。现在研究大多着重于盐升高血压的作用,但长期高盐饮食不仅导致血压升高,而且有独立于血压之外的多重作用,可直接导致组织器官损伤,使高血压及心血管、肾脏并发症的发病率、致残率、致死率居高不下。正常血压者每天摄盐量从 10 mmol 增至 250 mmol,可引起血钠增加 3.13 ± 0.75 mmol/L;血钠浓度每升高 1 mmol/L,可引起血压增加 1.91 mmHg,血钠的改变导致血管、心脏功能的改变^[6-7]。体外研究已发现,高钠盐可增加血管紧张素 II 诱导的血管平滑肌细胞增殖^[14],高钠盐培养还可直接引起血管平滑肌细胞增殖及血管平滑肌细胞、心肌细胞肥大^[8-9]。然而高钠盐直接对 CF 增殖的影响,尚未见细胞水平的报道。

石斛碱具有降低血压、抗氧化和扩张血管等心血管系统保护作用^[11],且近来研究发现石斛碱还有抗肿瘤细胞增殖的作用^[15],因此研究其对 CF 增殖的影响,为心肌纤维化治疗带来新的机遇。本实验以 DMEM 培养基含 139 mmol/L Na⁺ 为对照组,161 mmol/L Na⁺ 为高钠盐组,设置不同浓度 ($10^{-8} \sim 10^{-6}$ mol/L) 的石斛碱组,培养 48 h 后观察各组间 CF 增殖情况的变化;发现与对照组相比,高钠盐组 CF 增殖显著,PCNA 蛋白表达增加,说明高钠盐能直接诱导 CF 增殖,而 $10^{-5} \sim 10^{-4}$ mol/L 石斛碱可抑制 CF 增殖。本实验显示,与 161 mmol/L Na⁺ 等渗的甘露醇组对 CF 增殖无显著影响,表明 Na⁺ 浓度所致的渗透压改变与 CF 增殖无关。

丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 是细胞内一类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,可被细胞外多种刺激信号如激素、趋化因子以及应激刺激等所激活,进而调节多种细胞生物学活动,如细胞增殖、分化、发育、凋亡等;已发现心室肌和心房肌均存在 MAPK 信号通路。ERK 通路作为真核生物中已明确的 4 条 MAPK 信号转导通路中主要和经典的通路,参与诱导产生多种细胞生物学效应,如细胞的分化、增殖和凋亡等。Sugden 等^[16]提到血管紧张素 II 与成纤维细胞血管紧张素 II 受体 1 相结合,经 ERK 通路诱导成纤维细胞增殖,促进 I、III 型胶原 mRNA 表达增多,进而使得 I、III 型胶原合成与分泌增加而造成心肌间质纤维化。已有研究表明,高钠盐饮食可通过激活 ERK1/2 和 p38MAPK 引起大鼠心肌间质及其血管纤维化^[17]。本研究结果显示,与对照组相比,高钠盐组 CF 中 p-ERK1/2 蛋白表达增加,提示 ERK1/2 作为一条重要的信号转导途径参与了高钠盐诱导的 CF 增殖,

但与高钠盐组相比,石斛碱组 CF 中 p-ERK1/2 蛋白表达无显著差异,说明石斛碱发挥抗增殖效应与 ERK1/2 激活无关。

炎症反应对于高盐诱导的慢性充血性心力衰竭、心肌纤维化的发生发展具有重要作用^[18-19]。研究发现,压力负荷增加可导致心肌肥大和细胞外基质集聚,能激发心肌的炎症反应,诱导促炎细胞因子表达,介导心肌纤维化。NF- κ B 是一种具有转录激活功能的蛋白质,在炎症反应过程中发挥重要的调控作用。CF 具有自分泌和旁分泌功能,能够合成和分泌多种生物活性物质。研究认为,心肌纤维化是一种慢性炎性过程,以纤维细胞增殖及释放炎性因子如 MCP-1、VCAM-1、ICAM-1 为特征,这些炎症因子可作用于成纤维细胞,促使其合成和分泌胶原蛋白,从而影响器官纤维化^[20]。已有研究表明,高钠盐可激活 NF- κ B 介导心脏、肾脏炎症反应,导致心肾纤维化^[4,21]。石斛碱在体外可抑制 NF- κ B 活化介导的破骨细胞分化^[22]。石斛碱减轻糖尿病视网膜病变是通过抑制 NF- κ B p65 与 κ B 抑制蛋白磷酸化,减少 ICAM-1、白细胞介素 6、肿瘤坏死因子 α 等炎性因子释放而实现的^[23]。Li 等^[24]发现石斛碱通过抑制 p-p38 MAPK 和 NF- κ B 通路改善由脂多糖引起的记忆损伤问题。本实验结果显示,与对照组相比,高钠盐组 p-NF- κ B p65 及促炎性因子 ICAM-1、VCAM-1 和 MCP-1 表达明显增加,石斛碱组较高钠盐组 p-NF- κ B p65 和 MCP-1 表达减少;说明在体外培养的 CF 中,高钠盐可直接激活 NF- κ B 诱导细胞发生炎症反应、促进炎性因子表达,石斛碱通过抑制 NF- κ B 磷酸化而减少炎性因子 MCP-1 表达从而发挥抗炎作用。Zhao 等^[25]发现 NF- κ B 还可以通过调控基质金属蛋白酶表达来调节细胞外基质代谢,进而调节 CF 增殖,提示高钠盐诱导的 CF 增殖,可能也与 NF- κ B 的激活有关,石斛碱通过抑制 NF- κ B 通路的基因蛋白表达,从而抑制细胞增殖。

综上所述,高钠盐诱导 CF 增殖及炎性因子的表达,与上调 p-ERK1/2、p-NF- κ B p65 表达有关;石斛碱抑制 CF 增殖和炎性因子表达,与其抑制 p-NF- κ B p65 表达有关。

[参考文献]

- [1] Lal A, Veinot JP, Leenen FH. Prevention of high salt diet-induced cardiac hypertrophy and fibrosis by spironolactone [J]. *Am J Hypertens*, 2003, 16(4): 319-322.
- [2] 胡从智, 商黔惠, 刘婵, 等. 血管平滑肌细胞表型转化在高盐诱导的大鼠颈动脉重构中作用[J]. *中国动脉硬化*

- 化杂志, 2016, 24(5): 433-439.
- [3] 陈剑玲, 陈涛, 商黔惠, 等. 高盐饮食诱导 Wistar 大鼠主动脉重塑的机制及替米沙坦干预[J]. 中国动脉硬化杂志, 2014, 22(7): 655-662.
- [4] Ferreira DN, Katayama IA, Oliveira IB, et al. Salt-induced cardiac hypertrophy and interstitial fibrosis are due to a blood pressure-independent mechanism in Wistar rats[J]. *J Nutr*, 2010, 140(10): 1742-751.
- [5] 刘婵, 商黔惠, 石耿辉, 等. 瞬时受体电位通道 C 亚族和炎症在高盐饮食致左心室纤维化的作用[J]. 中国病理生理杂志, 2013, 29(12): 2133-138.
- [6] He FJ, Markandu ND, Sagnella GA, et al. Plasma sodium: ignored and underestimated[J]. *Hypertension*, 2005, 45(1): 98-102.
- [7] Suckling RJ, He FJ, Markandu ND, et al. Dietary salt influences postprandial plasma sodium concentration and systolic blood pressure[J]. *Kidney Int*, 2011, 81(4): 407-411.
- [8] Gu JW, Anand V, Shek EW, et al. Sodium induces hypertrophy of cultured myocardial myoblasts and vascular smooth muscle cells[J]. *Hypertension*, 1998, 31(5): 1083-087.
- [9] Nickenig G, Strehlow K, Roeling J, et al. Salt induces vascular AT1 receptor overexpression in vitro and in vivo[J]. *Hypertension*, 1998, 31(7): 1272-277.
- [10] 林萍, 毕志明, 徐红, 等. 石斛属植物药理活性研究进展[J]. 中草药, 2003, 34(11): 19-22.
- [11] 欧焕娇, 詹若挺, 成金乐, 等. 金钗石斛化学成分和药理作用的研究进展[J]. 现代中药研究与实践, 2010, 24(6): 84-86.
- [12] Umesawa M, Iso H, Date C, et al. Relations between dietary sodium and potassium intakes and mortality from cardiovascular disease: the Japan Collaborative Cohort Study for Evaluation of Cancer Risks[J]. *Am J Clin Nutr*, 2008, 88(1): 195-202.
- [13] Tuomilehto J, Jousilahti P, Rastenyte D, et al. Urinary sodium excretion and cardiovascular mortality: a prospective study[J]. *Lancet*, 2001, 357(9259): 848-851.
- [14] Gang L, Hirofumi H, Asadur R, et al. High sodium augments angiotensin II-induced vascular smooth muscle cell proliferation through the ERK 1/2-dependent pathway[J]. *Hypertens Res*, 2014, 37(1): 13-18.
- [15] Sun J, Guo YD, Fu XQ, et al. *Dendrobium candidum* inhibits McF-7 cells proliferation by inducing cell cycle arrest at G2/M phase and regulating key biomarkers[J]. *Onco Targets Ther*, 2016, 9: 21-30.
- [16] Sugden PH, Clerk A. Regulation of the ERK subgroup of MAP kinase cascades through G protein-coupled receptors[J]. *Cell Signal*, 1997, 9(5): 337-351.
- [17] Hayakawa Y, Aoyama T, Yokoyama C, et al. High salt intake damages the heart through activation of cardiac (pro) renin receptors even at an early stage of hypertension[J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): 453-468.
- [18] Germán EG, Nour-Eddine R, Martin AD, et al. Deletion of interleukin-6 prevents cardiac inflammation, fibrosis and dysfunction without affecting blood pressure in angiotensin II-high salt-induced hypertension[J]. *J Hypertens*, 2015, 33(1): 144-152.
- [19] Romain G, Geoffrey de C, Eli S, et al. Cardiosphere-derived cells reverse heart failure with preserved ejection fraction (HFPEF) in rats by decreasing fibrosis and inflammation[J]. *JACC Basic Transl Sci*, 2016, 1(1-2): 14-28.
- [20] Lü XL, Zhao P, Zhang ZG. Myocardial fibrosis: A chronic inflammatory process[J]. *J Clin Rehabil Tissue Engineer Res*, 2007, 51(10): 416-419.
- [21] Wenjuan H, Min Z, Min Z, et al. Increased dietary sodium induces COX2 expression by activating NF- κ B in renal medullary interstitial cells[J]. *Pflugers Arch*, 2014, 466(2): 357-367.
- [22] Jong Min B, Ju-Young K, Sung-Jun A, et al. *Dendrobium moniliforme* exerts inhibitory effects on both receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand-mediated osteoclast differentiation in vitro and lipopolysaccharide-induced bone erosion in vivo[J]. *Molecules*, 2016, 21(3): 295-306.
- [23] Yu ZY, Gong CY, Lu B, et al. *Dendrobium chrysotoxum* Lindl. alleviates diabetic retinopathy by preventing retinal inflammation and tight junction protein decrease[J]. *J Diabetes Res*, 2015, 2015: 1-10.
- [24] Li YF, Li F, Gong QH, et al. Inhibitory effects of *dendrobium* alkaloids on memory impairment induced by lipopolysaccharide in rats[J]. *Planta Med*, 2011, 77(2): 117-121.
- [25] Zhao Q, Liu ZD, Xue Y, et al. Ds-echinoside A, a new triterpene glycoside derived from sea cucumber, exhibits antimetastatic activity via the inhibition of NF- κ B-dependent MMP-9 and VEGF expressions[J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2011, 12(7): 534-544.

(此文编辑 曾学清)