

# 原花青素 B<sub>2</sub> 对 LPS 诱导的心肌细胞损伤的保护作用及机制

李 静<sup>1</sup>, 杨 琴<sup>1</sup>, 张雪峰<sup>1</sup>, 杨吉明<sup>1</sup>, 龚 芳<sup>2</sup>

(1. 荆州市第二人民医院药剂科, 湖北省荆州市 434000; 2. 湖北文理学院附属医院  
襄阳市中心医院心内科, 湖北省襄阳市 441021)

[关键词] 原花青素 B<sub>2</sub>; LPS 诱导; 心肌细胞; 细胞凋亡

[摘要] 目的 探讨原花青素 B<sub>2</sub>(PCB<sub>2</sub>) 对 LPS 诱导的心肌细胞损伤的保护作用及机制。方法 正常培养心肌细胞 H9c2, 用 LPS 诱导 H9c2 细胞建立细胞损伤模型, 分别用 6.25、12.5、25.0 μmol/L 的 PCB<sub>2</sub> 处理模型细胞, 25.0 μmol/L 的 PCB<sub>2</sub> 处理模型细胞后加入核因子 κB(NF-κB) 信号通路抑制剂 PDTC 处理。采用 MTT 法检测细胞存活率; 流式细胞术检测细胞凋亡率; 酶联免疫吸附法(ELISA)检测细胞肿瘤坏死因子 α(TNF-α)、白细胞介素 1β(IL-1β)和白细胞介素 6(IL-6)的水平; 丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)试剂盒分别检测 MDA 含量和 SOD、GSH-Px 活性; Western blot 检测细胞中 NF-κB、IκB-α 蛋白表达。结果 LPS 组细胞存活率较对照组显著降低( $P<0.05$ ), 而 PCB<sub>2</sub> 显著升高细胞存活率( $P<0.05$ )。LPS 组细胞凋亡率较对照组显著升高( $P<0.05$ ), 而 PCB<sub>2</sub> 显著降低 LPS 处理的细胞凋亡率( $P<0.05$ )。LPS 组细胞 TNF-α、IL-1β、IL-6 水平较对照组显著升高( $P<0.05$ ), 而 PCB<sub>2</sub> 显著降低 LPS 处理细胞 TNF-α、IL-1β、IL-6 水平( $P<0.05$ )。与对照组比较, LPS 组细胞 MDA 含量显著升高, SOD、GSH-Px 活性显著降低( $P<0.05$ ); PCB<sub>2</sub> 显著降低 LPS 处理的细胞 MDA 含量, 显著升高 SOD、GSH-Px 活性( $P<0.05$ )。与对照组比较, LPS 组细胞 NF-κB 蛋白表达显著升高, IκB-α 蛋白表达显著降低( $P<0.05$ ); 与 LPS 组比较, PCB<sub>2</sub> 显著降低细胞 NF-κB 蛋白表达, 显著升高 IκB-α 蛋白表达( $P<0.05$ )。与 LPS+PCB<sub>2</sub> 组相比, LPS+PCB<sub>2</sub>+PDTC 能显著降低细胞凋亡率和 TNF-α、IL-1β、IL-6、MDA 含量, 显著升高 SOD、GSH-Px 活性。结论 PCB<sub>2</sub> 降低 LPS 诱导的心肌细胞凋亡率、炎症水平和氧化应激, 提高细胞存活率, 这可能与抑制 NF-κB 信号通路的活化有关。

[中图分类号] R363; R5

[文献标识码] A

## Protective effect and mechanism of procyanidin B<sub>2</sub> on LPS-induced cardiomyocyte injury

LI Jing<sup>1</sup>, YANG Qin<sup>1</sup>, ZHANG Xuefeng<sup>1</sup>, YANG Jiming<sup>1</sup>, GONG Fang<sup>2</sup>

(1. Department of Pharmacy, Jingzhou Second People's Hospital, Jingzhou, Hubei 434000, China; 2. Department of Cardiology, Xiangyang Central Hospital & Affiliated Hospital of Hubei University of Arts and Science, Xiangyang, Hubei 441021, China)

[KEY WORDS] procyanidin B<sub>2</sub>; LPS induction; cardiomyocytes; cell apoptosis

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the protective effect and mechanism of procyanidin B<sub>2</sub>(PCB<sub>2</sub>) on lipopolysaccharide (LPS)-induced cardiomyocyte injury. **Methods** Cardiomyocytes H9c2 were cultured normally, and induced by LPS to establish cell damage models. The model cells were treated with PCB<sub>2</sub> of 6.25, 12.5 and 25.0 μmol/L. 25.0 μmol/L PCB<sub>2</sub> treatment model was then treated with NF-κB signaling pathway inhibitor PDTC treatment. Tetrazolium salt colorimetry (MTT) was used to detect cell survival; flow cytometry was used to detect cell apoptosis; enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect cell tumor necrosis factor alpha (TNF-α), interleukin 1β (IL-1β) and interleukin 6 (IL-6) levels; malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) kits were used to detect MDA content and activity of SOD and GSH-Px, respectively; Western blot was used to detect the expression of nuclear factor-κB (NF-κB) and IκB-α in cells. **Results** Compared with control group, the cell survival rate of the LPS group was significantly reduced ( $P<0.05$ ); compared with LPS group, PCB<sub>2</sub> significantly increased the

[收稿日期] 2021-04-17

[修回日期] 2021-05-21

[基金项目] 湖北省自然科学基金项目(WJ2015Q037)

[作者简介] 李静, 主管药师, 研究方向为药剂, E-mail 为 lijing844@163.com。通信作者龚芳, 主治医师, 研究方向为心血管疾病诊断与治疗, E-mail 为 372864531@163.com。

cell survival rate ( $P<0.05$ ). Compared with control group, the apoptosis rate was significantly increased in LPS group ( $P<0.05$ ); compared with LPS group, PCB<sub>2</sub> significantly reduced the apoptosis rate ( $P<0.05$ ). Compared with control group, the levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-6 in LPS group ( $P<0.05$ ); compared with LPS group, PCB<sub>2</sub> significantly reduced the levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-6 in the cells ( $P<0.05$ ). Compared with control group, the cell MDA content in LPS group was significantly increased, and the SOD and GSH-Px activities were significantly reduced ( $P<0.05$ ); compared with LPS group, PCB<sub>2</sub> significantly reduced the cellular MDA content and significantly increased the SOD and GSH-Px activities ( $P<0.05$ ). Compared with control group, the cell NF- $\kappa$ B protein expression in LPS group was significantly increased, and the I $\kappa$ B- $\alpha$  protein expression was significantly decreased ( $P<0.05$ ); compared with LPS group, PCB<sub>2</sub> significantly reduced the cell NF- $\kappa$ B protein expression and significantly increased I $\kappa$ B- $\alpha$  protein expression ( $P<0.05$ ). Compared with LPS+PCB<sub>2</sub> group, LPS+PCB<sub>2</sub>+PDTC significantly reduced the apoptosis rate, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 and MDA content, and significantly increased the SOD and GSH-Px activities.

**Conclusion**

PCB<sub>2</sub> reduces the apoptosis rate, inflammation level and oxidative stress of cardiomyocytes induced by LPS, and improves cell survival rate, which may be related to inhibiting the activation of NF- $\kappa$ B signaling pathway.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是冠心病、脑梗死、外周血管疾病的主要原因。当心肌细胞出现缺血、炎症、肥大或坏死等病理情况,就会出现心肌细胞损伤。但是脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)引起的心肌损伤主要是指心肌炎<sup>[1-2]</sup>。LPS是革兰氏阴性杆菌细胞壁外壁的组成成分,是由脂质和多糖构成的物质, LPS能够诱导心肌细胞发生炎症反应和氧化应激<sup>[3]</sup>。原花青素 B<sub>2</sub>(procyanidin B<sub>2</sub>, PCB<sub>2</sub>)是葡萄籽原花青素提取物,具有清除自由基、抗氧化、抗炎症以及抗动脉粥样硬化等作用<sup>[4-6]</sup>。本研究主要探究 PCB<sub>2</sub>对LPS诱导的心肌细胞损伤的保护作用及机制,为治疗该疾病提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 主要材料

心肌细胞系 H9c2 购自美国 ATCC 公司; PCB<sub>2</sub>、LPS 购自美国 Gibco 公司; DMEM 培养基、胎牛血清、PDTC 购自美国 Sigma 公司; 胰蛋白酶购自美国 Invitrogen 公司; MTT 试剂购自美国 Santa Cruz 公司; Annexin V-FITC/PI 试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司; ELISA 试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司; 丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司; BCA 蛋白检测试剂盒、PVDF 膜购自北京索莱宝科技有限公司; 一抗、二抗购自美国 CST 公司。

### 1.2 细胞培养

H9c2 细胞在含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中培养, 于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中, 待细胞融合度达到 80%~90% 时, 用 0.25% 胰蛋白酶消化传代,

取传代细胞用于后续实验。

### 1.3 细胞损伤模型建立与分组

用 1 mg/L 的 LPS 处理 H9c2 细胞 6 h, 建立细胞损伤模型, 作为模型组(LPS 组)。分别用 6.25、12.5、25.0  $\mu$ mol/L 的 PCB<sub>2</sub> 处理模型细胞, 作为 LPS+PCB<sub>2</sub> 低剂量组(LPS+PCB<sub>2</sub>-L)、LPS+PCB<sub>2</sub> 中剂量组(LPS+PCB<sub>2</sub>-M)、LPS+PCB<sub>2</sub> 高剂量组(LPS+PCB<sub>2</sub>-H)。正常培养 H9c2 细胞作为对照组(Control)。选择 25.0  $\mu$ mol/L 的 PCB<sub>2</sub> 处理模型细胞后, 然后加入 100  $\mu$ mol/L 的 NF- $\kappa$ B 信号通路抑制剂 PDTC 处理, 记为 LPS+PCB<sub>2</sub>+PDTC 组。各组细胞培养 48 h 后进行后续实验。

### 1.4 MTT 法检测细胞存活率

各组细胞以  $1 \times 10^5$  个/孔接种于 96 孔板。培养 2 天后, 每孔加入 5 g/L 的 MTT 液 20  $\mu$ L, 37℃ 孵育 4 h, 弃培养上清液, 每孔再加入 150  $\mu$ L 二甲基亚砷, 充分溶解结晶后, 酶标仪在 490 nm 处测定各孔 OD 值, 将 OD 值换算成细胞存活率。

### 1.5 流式细胞术检测细胞凋亡率

取各组细胞, 加入预冷 PBS, 4℃ 条件下经 3 000 r/min 离心 6 min, 弃上清, 向细胞沉淀中加入 500  $\mu$ L 结合缓冲液重悬细胞, 分别加入 5  $\mu$ L Annexin V-FITC 与 5  $\mu$ L PI, 室温避光孵育 10 min, 应用流式细胞仪检测细胞凋亡率。

### 1.6 ELISA 检测肿瘤坏死因子 $\alpha$ 、白细胞介素 1 $\beta$ 和白细胞介素 6 水平

各组细胞以  $1 \times 10^7$  个/L 接种于 96 孔板, 常规培养, 按照 ELISA 试剂盒说明书检测细胞肿瘤坏死因子  $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ) 和白细胞介素 6(interleukin-6, IL-6)的水平。

### 1.7 MDA 含量和 SOD、GSH-Px 活性的检测

各组细胞培养 48 h 后,收集上清,按照试剂盒说明书检测 MDA 含量和 SOD、GSH-Px 活性。

### 1.8 Western blot 检测细胞 NF- $\kappa$ B、I $\kappa$ B- $\alpha$ 蛋白表达

收集各组细胞,加入 RIPA 裂解液,BCA 试剂盒检测蛋白浓度,加样 40  $\mu$ g,SDS-PAGE 电泳分离蛋白,转移至 PVDF 膜,5% 脱脂牛奶封闭 2 h,加入一抗(NF- $\kappa$ B:1:1 000;I $\kappa$ B- $\alpha$ :1:1 000),4  $^{\circ}$ C 孵育 24 h,TBST 洗涤,加入二抗( $\beta$ -actin:1:2 000),室温孵育 1 h,TBST 洗涤,滴加 ECL 化学发光剂,暗室内曝光显影,应用 Image J 软件分析各条带灰度值。

### 1.9 统计学处理

采用 SPSS 22.0 分析数据,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间比较采用独立样本  $t$  检验,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD- $t$  检验,以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 PCB<sub>2</sub> 对 LPS 诱导的 H9c2 细胞存活的影响

与对照组比较,LPS 组细胞存活率显著降低( $P < 0.05$ );与 LPS 组比较,LPS+PCB<sub>2</sub>-L 组、LPS+PCB<sub>2</sub>-

M 组和 LPS+PCB<sub>2</sub>-H 组细胞存活率显著升高( $P < 0.05$ ;图 1)。

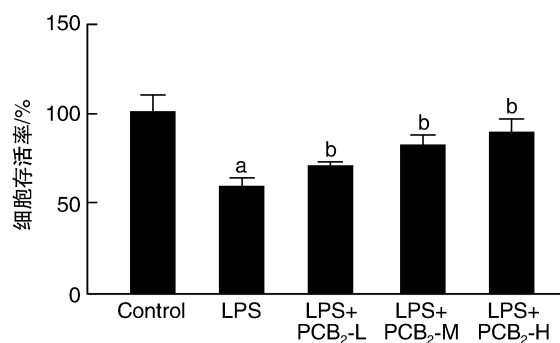


图 1. PCB<sub>2</sub> 对 LPS 诱导的 H9c2 细胞存活的影响( $n=9$ )

a 为  $P < 0.05$ ,与对照组比较;b 为  $P < 0.05$ ,与 LPS 组比较。

Figure 1. The effect of PCB<sub>2</sub> on the survival of H9c2 cells induced by LPS( $n=9$ )

### 2.2 PCB<sub>2</sub> 对 LPS 诱导的 H9c2 细胞凋亡的影响

与对照组比较,LPS 组细胞凋亡率显著升高( $P < 0.05$ );与 LPS 组比较,LPS+PCB<sub>2</sub>-L 组、LPS+PCB<sub>2</sub>-M 组和 LPS+PCB<sub>2</sub>-H 组细胞凋亡率显著降低( $P < 0.05$ ;图 2)。

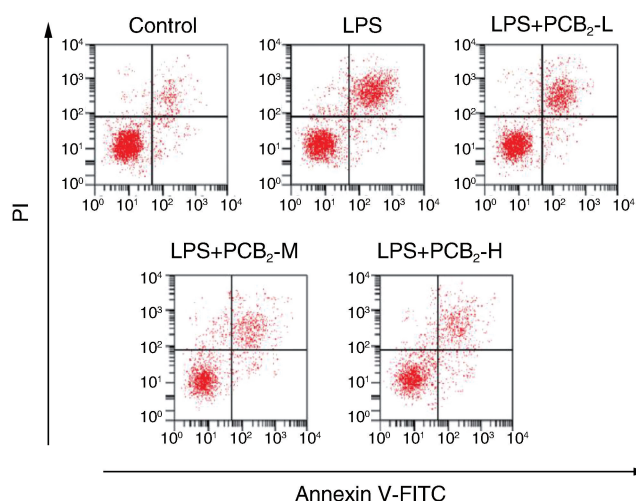


图 2. PCB<sub>2</sub> 对 LPS 诱导的 H9c2 细胞凋亡的影响( $n=9$ )

a 为  $P < 0.05$ ,与对照组比较;b 为  $P < 0.05$ ,与 LPS 组比较。

Figure 2. The effect of PCB<sub>2</sub> on LPS-induced apoptosis of H9c2 cells( $n=9$ )

### 2.3 PCB<sub>2</sub> 对 LPS 诱导的 H9c2 细胞炎症因子的影响

与对照组比较,LPS 组细胞 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 水平显著升高( $P < 0.05$ );与 LPS 组比较,LPS+PCB<sub>2</sub>-L 组、LPS+PCB<sub>2</sub>-M 组、LPS+PCB<sub>2</sub>-H 组细胞 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 水平显著降低( $P < 0.05$ ;表 1)。

### 2.4 PCB<sub>2</sub> 对 LPS 诱导的 H9c2 细胞氧化应激的影响

与对照组比较,LPS 组细胞 MDA 含量显著升高,SOD、GSH-Px 活性显著降低( $P < 0.05$ );与 LPS 组比较,LPS+PCB<sub>2</sub>-L 组、LPS+PCB<sub>2</sub>-M 组、LPS+PCB<sub>2</sub>-H 组细胞 MDA 含量显著降低,SOD、GSH-Px 活性显著升高( $P < 0.05$ ;表 2)。

表 1. PCB<sub>2</sub> 对 LPS 诱导的 H9c2 细胞炎症因子的影响( $n=9$ )  
Table 1. The effect of PCB<sub>2</sub> on the inflammatory factors of H9c2 cells induced by LPS( $n=9$ )

单位: ng/L

| 分组                        | TNF- $\alpha$                   | IL-1 $\beta$                    | IL-6                            |
|---------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| 对照组                       | 55.63 $\pm$ 4.32                | 71.36 $\pm$ 6.38                | 62.38 $\pm$ 5.60                |
| LPS 组                     | 164.38 $\pm$ 10.09 <sup>a</sup> | 146.38 $\pm$ 9.28 <sup>a</sup>  | 178.35 $\pm$ 12.29 <sup>a</sup> |
| LPS+PCB <sub>2</sub> -L 组 | 128.09 $\pm$ 9.06 <sup>b</sup>  | 128.09 $\pm$ 10.54 <sup>b</sup> | 149.06 $\pm$ 14.41 <sup>b</sup> |
| LPS+PCB <sub>2</sub> -M 组 | 102.71 $\pm$ 7.63 <sup>b</sup>  | 116.30 $\pm$ 8.80 <sup>b</sup>  | 123.73 $\pm$ 10.08 <sup>b</sup> |
| LPS+PCB <sub>2</sub> -H 组 | 75.36 $\pm$ 2.29 <sup>b</sup>   | 98.63 $\pm$ 7.35 <sup>b</sup>   | 100.09 $\pm$ 2.70 <sup>b</sup>  |

注: a 为  $P<0.05$ , 与对照组比较; b 为  $P<0.05$ , 与 LPS 组比较。

表 2. PCB<sub>2</sub> 对 LPS 诱导的 H9c2 细胞氧化应激的影响( $n=9$ )  
Table 2. The effect of PCB<sub>2</sub> on the oxidative stress of H9c2 cells induced by LPS( $n=9$ )

| 分组                        | MDA/<br>( $\mu$ mol/g)        | SOD/<br>(U/mg)                | GSH-Px/<br>(U/g)                |
|---------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| 对照组                       | 9.62 $\pm$ 0.83               | 89.31 $\pm$ 7.06              | 726.34 $\pm$ 25.61              |
| LPS 组                     | 45.63 $\pm$ 6.07 <sup>a</sup> | 38.02 $\pm$ 2.82 <sup>a</sup> | 338.09 $\pm$ 20.64 <sup>a</sup> |
| LPS+PCB <sub>2</sub> -L 组 | 30.29 $\pm$ 4.40 <sup>b</sup> | 48.16 $\pm$ 3.58 <sup>b</sup> | 496.34 $\pm$ 23.82 <sup>b</sup> |
| LPS+PCB <sub>2</sub> -M 组 | 25.60 $\pm$ 3.19 <sup>b</sup> | 57.02 $\pm$ 5.19 <sup>b</sup> | 548.37 $\pm$ 19.67 <sup>b</sup> |
| LPS+PCB <sub>2</sub> -H 组 | 19.37 $\pm$ 2.28 <sup>b</sup> | 65.37 $\pm$ 6.66 <sup>b</sup> | 619.75 $\pm$ 29.67 <sup>b</sup> |

注: a 为  $P<0.05$ , 与对照组比较; b 为  $P<0.05$ , 与 LPS 组比较。

## 2.5 PCB<sub>2</sub> 对 NF- $\kappa$ B 信号通路相关蛋白的影响

与对照组比较, LPS 组细胞 NF- $\kappa$ B 蛋白表达显著升高, I $\kappa$ B- $\alpha$  蛋白表达显著降低( $P<0.05$ ); 与 LPS 组比较, LPS+PCB<sub>2</sub>-L 组、LPS+PCB<sub>2</sub>-M 组、LPS+PCB<sub>2</sub>-H 组细胞 NF- $\kappa$ B 蛋白表达显著降低, I $\kappa$ B- $\alpha$  蛋白表达显著升高( $P<0.05$ ; 图 3)。

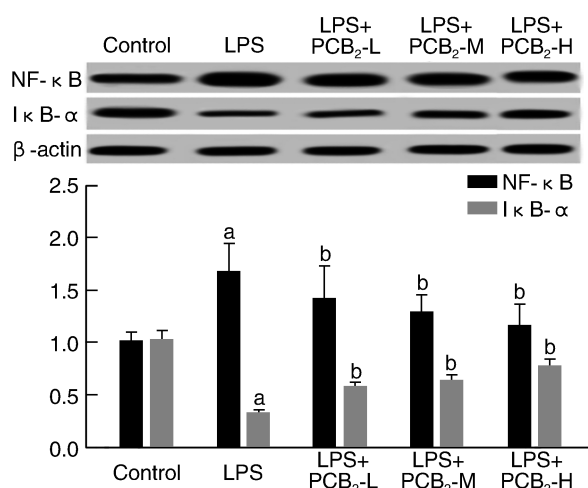


图 3. PCB<sub>2</sub> 对 NF- $\kappa$ B 信号通路相关蛋白的影响( $n=9$ )

a 为  $P<0.05$ , 与对照组比较; b 为  $P<0.05$ , 与 LPS 组比较。

Figure 3. The effect of PCB<sub>2</sub> on the related proteins of NF- $\kappa$ B signaling pathway( $n=9$ )

## 2.6 PCB<sub>2</sub> 通过调控 NF- $\kappa$ B 信号通路对 LPS 诱导的心肌细胞损伤的影响

与 LPS+PCB<sub>2</sub> 组相比, LPS+PCB<sub>2</sub>+PDTC 组细胞凋亡率和 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、MDA 含量显著降低, SOD、GSH-Px 活性显著升高( $P<0.05$ ; 表 3 和图 4)。

表 3. PCB<sub>2</sub> 通过调控 NF- $\kappa$ B 信号通路对 LPS 诱导的心肌细胞损伤的影响( $n=9$ )

Table 3. The effect of PCB<sub>2</sub> on LPS-induced cardiomyocyte damage by regulating the NF- $\kappa$ B signaling pathway ( $n=9$ )

| 参数                    | LPS+PCB <sub>2</sub> 组 | LPS+PCB <sub>2</sub> +PDTC 组 | t 值   | P 值   |
|-----------------------|------------------------|------------------------------|-------|-------|
| TNF- $\alpha$ /(ng/L) | 72.45 $\pm$ 4.16       | 60.31 $\pm$ 3.82             | 6.448 | 0.000 |
| IL-1 $\beta$ /(ng/L)  | 97.24 $\pm$ 7.21       | 75.80 $\pm$ 5.43             | 7.216 | 0.000 |
| IL-6/(ng/L)           | 104.21 $\pm$ 9.57      | 89.26 $\pm$ 7.11             | 3.762 | 0.002 |
| MDA/( $\mu$ mol/g)    | 18.52 $\pm$ 1.67       | 12.22 $\pm$ 1.02             | 9.658 | 0.000 |
| SOD/(U/mg)            | 63.30 $\pm$ 5.78       | 77.86 $\pm$ 7.26             | 4.707 | 0.000 |
| GSH-Px/(U/g)          | 624.43 $\pm$ 31.24     | 678.30 $\pm$ 35.92           | 3.395 | 0.004 |

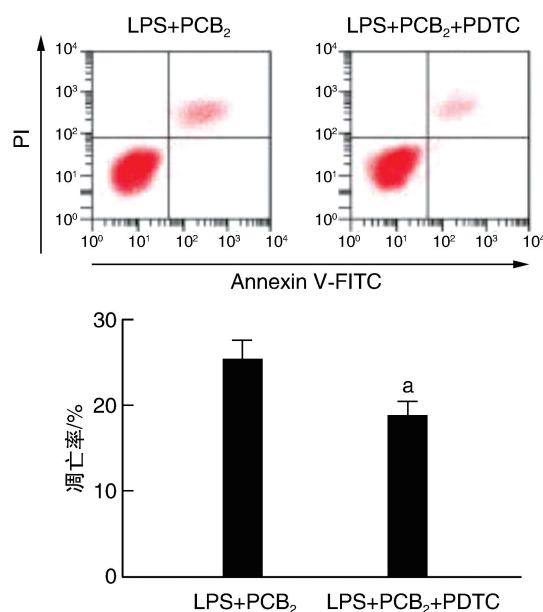


图 4. PCB<sub>2</sub> 通过调控 NF- $\kappa$ B 信号通路对 LPS 诱导的心肌细胞损伤的影响( $n=9$ )

a 为  $P<0.05$ , 与 LPS+PCB<sub>2</sub> 组比较。

Figure 4. The effect of PCB<sub>2</sub> on LPS-induced cardiomyocyte damage by regulating the NF- $\kappa$ B signaling pathway ( $n=9$ )

## 3 讨论

本研究结果发现, 与对照组比较, LPS 组细胞存活率显著降低( $P<0.05$ ); 与 LPS 组比较, PCB<sub>2</sub> 显著升高细胞存活率。与对照组比较, LPS 组细胞凋亡

率显著升高( $P<0.05$ );与LPS组比较,PCB<sub>2</sub>显著降低细胞凋亡率。张晓晖等<sup>[7]</sup>研究发现,PCB<sub>2</sub>处理后,低、中、高剂量组细胞活力均明显升高,凋亡细胞数量明显下降,与本研究结果一致。

已有研究报道,心肌细胞损伤后,炎症水平升高,或者炎症因子可导致心肌细胞功能异常<sup>[8-9]</sup>。本研究结果发现,与对照组比较,LPS组细胞TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6水平显著升高( $P<0.05$ );与LPS组比较,PCB<sub>2</sub>显著降低细胞TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 和IL-6水平。MDA是膜脂过氧化最重要的产物之一,它的产生还能加剧膜的损伤,因此在植物衰老生理和抗性生理研究中MDA含量是一个常用指标,可通过MDA了解膜脂过氧化的程度,以间接测定膜系统受损程度<sup>[10]</sup>。SOD是生物体内存在的一种抗氧化金属酶,它能够催化超氧阴离子自由基歧化生成氧和过氧化氢,在机体氧化与抗氧化平衡中起到至关重要的作用,与很多疾病的发生、发展密不可分<sup>[11]</sup>。GSH-Px是机体内广泛存在的一种重要的过氧化物分解酶,它能保护细胞膜的结构及功能不受过氧化物的干扰及损害<sup>[12]</sup>。本研究发现,与对照组比较,LPS组细胞MDA含量显著升高,SOD、GSH-Px活性显著降低;与LPS组比较,PCB<sub>2</sub>显著降低细胞MDA含量,升高SOD、GSH-Px活性。姚鹏梅<sup>[13]</sup>研究发现,PCB<sub>2</sub>抑制炎症小体激活,并保护H9c2细胞氧化应激损伤。刘丹等<sup>[14]</sup>研究发现,PCB<sub>2</sub>通过抑制炎症小体活性减轻过氧化氢对H9c2细胞的损伤。NF- $\kappa$ B信号通路参与机体的炎症反应、免疫应答,能调节细胞凋亡、应激反应。NF- $\kappa$ B过度激活,与人类许多疾病相关,因此通过药物来抑制NF- $\kappa$ B信号转导通路,可能会成为治疗心脏疾病的手段<sup>[15-16]</sup>。本研究中,与对照组比较,LPS组细胞NF- $\kappa$ B蛋白表达显著升高,I $\kappa$ B- $\alpha$ 蛋白表达显著降低,PCB<sub>2</sub>显著降低细胞NF- $\kappa$ B蛋白表达,升高I $\kappa$ B- $\alpha$ 蛋白表达。加入NF- $\kappa$ B信号通路抑制剂后,细胞凋亡率降低,TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、MDA含量明显降低,SOD、GSH-Px活性明显升高,说明PCB<sub>2</sub>可能通过抑制NF- $\kappa$ B信号通路减轻LPS诱导的心肌细胞损伤。丁丹等<sup>[17]</sup>发现,灯盏花素通过NF- $\kappa$ B信号通路影响大鼠心肌细胞损伤。曾先燕<sup>[18]</sup>研究发现,橙皮素抑制TLR4/NF- $\kappa$ B信号通路可以保护大鼠心肌损伤。

综上所述,PCB<sub>2</sub>可以降低LPS诱导的心肌细胞凋亡率、炎症水平和氧化应激,提高细胞存活率,这可能与抑制NF- $\kappa$ B信号通路有关,可为治疗心脏方面的疾病提供理论基础。

## [参考文献]

- [1] HÉKIMIAN G, JOVANOVIĆ T, BRÉCHOT N, et al. When the heart gets the flu: Fulminant influenza B myocarditis: a case-series report and review of the literature[J]. J Crit Care, 2018, 47(1): 61-64.
- [2] BRAMPTON C, POMOZI V, CHEN L H, et al. ABCC6 deficiency promotes dyslipidemia and atherosclerosis[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 3881.
- [3] ZHAO J, LIU Z, CHANG Z. Lipopolysaccharide induces vascular endothelial cell pyroptosis via the SP1/RCN2/ROS signaling pathway[J]. Eur J Cell Biol, 2021, 100(4): 151164.
- [4] 姜从桥, 朱平胜, 时依, 等. 原花青素B2对三硝基苯磺酸结肠炎模型小鼠肠炎及肠屏障的保护作用[J]. 南方医科大学学报, 2019, 39(7): 778-783.
- [5] 顾丽芬, 杨涛, 高颖, 等. 原花青素B2对人牙周膜细胞炎症介质表达的影响[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2019, 39(2): 120-125.
- [6] 张玲玲. 原花青素B2平稳餐后血糖作用及其在荞麦中分布的研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019.
- [7] 张晓晖, 曾繁典, 孙智达, 等. 原花青素B2对LPS诱导的心肌细胞凋亡的保护作用[J]. 中国药理学通报, 2015, 31(11): 1510-1515.
- [8] 刘宇, 李耀, 万永灵. 氯氨酮通过抑制炎症因子表达保护脓毒症大鼠心肌细胞功能[J]. 中国免疫学杂志, 2020, 36(20): 2438-2442.
- [9] 冯华, 代涛, 陈铁, 等. PCSK9拮抗剂干预心肌梗死大鼠心肌细胞凋亡及炎症因子表达的机制研究[J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2020, 8(9): 80-81.
- [10] 李蒙华, 常文, 路文杰, 等. 意大利牛舌草的化学成分及对大鼠心肌细胞缺氧/复氧损伤的保护作用[J]. 西北药学杂志, 2020, 35(3): 335-340.
- [11] 胡灿, 唐其柱. 苦参碱对高糖诱导的H9c2心肌细胞损伤的影响[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2020, 22(2): 180-184.
- [12] 卢秋玉, 苏金妹, 唐爱存, 等. 木棉花总黄酮对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(6): 664-668.
- [13] 姚鹏梅. 原花青素B2抑制NLRP3炎症体激活保护H9c2细胞氧化应激损伤的作用研究[D]. 锦州: 锦州医科大学, 2019.
- [14] 刘丹, 王高频, 常清华, 等. 原花青素对缺血再灌注大鼠心肌细胞凋亡及凋亡相关基因蛋白表达的影响[J]. 中国循环杂志, 2016, 31(7): 696-700.
- [15] PARROTTA E I, PROCOPIO A, SCALISE S, et al. Deciphering the role of Wnt and Rho signaling pathway in iPSC-derived ARVC cardiomyocytes by in silico mathematical modeling[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(4): 2004.
- [16] MORISHIMA M, TAHARA S, WANG Y, et al. Oxytocin down-regulates the Ca(V)1.2 L-type Ca<sup>2+</sup> channel via Gi/cAMP/PKA/CREB signaling pathway in cardiomyocytes[J]. Membranes, 2021, 11(4): 234.
- [17] 丁丹, 焦丽华, 王雪臣, 等. 灯盏花素对大鼠心肌缺血再灌注损伤心肌细胞凋亡及NF- $\kappa$ B通路信号分子 $\alpha$ 7nAChR、p65、I $\kappa$ B- $\alpha$ 的影响[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2018, 10(12): 1480-1483.
- [18] 曾先燕. 橙皮素通过抑制TLR4/NF- $\kappa$ B信号通路对大鼠心肌缺血/再灌注损伤的保护效应研究[D]. 太原: 山西医科大学, 2019.

(此文编辑 许雪梅)