



人参总皂苷(GS)合黄连小檗碱 Ber 对心衰大鼠 VEGF、Neuropilin-2 表达的影响

张旭东, 陈忠新, 解颖* (黑龙江中医药大学, 哈尔滨, 150040)

摘要: 目的 探讨观察人参总皂苷合黄连小檗碱对慢性心衰大鼠 VEGF (内皮因子)、Neuropilin-2 (神经纤毛蛋白-2) 表达的影响。方法 建立慢性心衰大鼠模型, 并将其随机分成模型组、卡托普利组和 GS+Ber 组, 另设空白对照组; 1 个月后通过荧光定量 PCR 对各组大鼠内皮因子、神经纤毛蛋白-2 mRNA 表达进行检测。结果 GS+Ber 组 VEGF mRNA、Neuropilin-2 mRNA 的表达明显高于模型组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。结论 人参总皂苷合黄连小檗碱在治疗心衰的同时, 能够调节 VEGF、Neuropilin-2 表达, 具有促进血管新生作用。

关键词: 慢性心衰 人参总皂苷 黄连小檗碱 VEGF Neuropilin-2

中图分类号: R285.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-5187 (2016) 06-033-01

慢性心力衰竭 (chronic heart failure, CHF, 心衰) 是由于各种器质性或功能性心脏病使心室或射血能力受损的一种综合征。随着中国社会老龄人口的逐年增加, 高血压、冠状动脉硬化等心血管病发病率的上升, 心衰已成为临床最常见的危重疾病之一。Neuropilin-2^[1, 2] (神经纤毛蛋白-2, NRP-2) 为 NRPs 家族中的一个亚型, VEGF 及 NRPS 家族细胞因子在心衰的血管新生中起到主导作用。VEGF^[3, 4] 与其受体 VEGFR1、VEGFR2 结合后, 可以促进内皮细胞存活, 增殖并且迁移。而 NRPS 不仅是 VEGF 家族成员的复合受体, 形成复合体促进血管生成和生长, 同时也可提高 VEGF 与 VEGFR1、VEGFR2 的结合能力。本研究通过对慢性心衰大鼠进行 GS+Ber 灌胃, 观察其对 VEGF、Neuropilin-2 表达的影响, 具体实验内容如下。

1. 材料和方法

1.1 材料

清洁级雄性 Wistar 大鼠 (由实验中心提供) 50 只, 体重为 210—250g; 人参皂苷 (Rb1 对照品) 购自中国药品生物制品检定所; 黄连小檗碱购自南京替斯艾中药研究所; Go Taq qPCR Master Mix 购自上海生物科技有限公司; Trizol 试剂购自 Invitrogen 公司 (美国); 卡托普利购自常州制药厂有限公司; 异丙肾上腺素购自上海禾丰制药有限公司; 红参、黄连为是市售 (已成功提取出 GS 和 Ber, 并纯化)。

1.2 方法

1.2.1 建立动物模型及分组

随机选择 40 只大鼠, 连续 12 天进行大量异丙肾上腺素 (ISO) 皮下多点注射, 首日剂量为 $20\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 次日剂量为 $10\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 以后每日剂量为 $5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。剩余大鼠作为正常对照组, 采用等量蒸馏水皮下注射。通过检测造模大鼠与正常大鼠血流动力学相关指标, 判断模型是否建立, 将建模后大鼠随机分成模型组: 以蒸馏水进行灌胃处理; 卡托普利组: $45\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 进行灌胃; GS+Ber 组: $20\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 灌胃。正常对照组采用蒸馏水灌胃处理, 连续处理 1 个月。每组各 12 只大鼠。

1.2.2 检测大鼠心肌组织 VEGF、Neuropilin-2 表达

具体检测步骤如下:

①提取大鼠心肌细胞 RNA 并合成 cDNA: 取大鼠心肌组织 50mg, 采用超声破碎, 根据 Trizol 试剂使用说明书提取总 RNA, 并使用 OligdT15-18 作引物反转录得到 cDNA。

②TaqMan 水解探针和引物: 根据 VEGF 与 Neuropilin-2 结构, 设计引物及探针, 并由上海生物工程合成。

③实时荧光定量 PCR: 体系为 $25\mu\text{L}$, 包括 Go Taq qPCR Master Mix $12.5\mu\text{L}$, 引物 (上下游) 各 $1\mu\text{L}$, 探针和 ROX Reference Dye 各 $0.5\mu\text{L}$, 和 $1\mu\text{L}$ cDNA, 加灭菌蒸馏水补充至 $25\mu\text{L}$, 涡旋振荡混匀, 并进行 Real-time PCR, 同时设置空白对照和阴性及阳性对照, 模板分别为水和大鼠心肌细胞 RNA 及 DNA, 每个样品均重复三次, 记录其 CT 值, 数据通过 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法分析。

作者简介: 张旭东, 硕士研究生, 研究方向: 经方治疗内科疾病的临床与基础研究。

*通讯作者: 解颖, 助理研究员, 中药复方的活性物质研究。

1.3 统计学方法

数据通过 SPSS13.0 软件进行分析。若数据方差不齐 (或不符合正态分布), 通过秩和检验以中位数 M 表示, 当 $P<0.05$ 时, 差异在统计学方面有意义。

2. 结果

如表 1 所示, GS+Ber 组 VEGF mRNA 及 Neuropilin-2 mRNA 的表达明显高于模型组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); 卡托普利组 VEGF mRNA 及 Neuropilin-2 mRNA 的表达明显低于模型组 ($P<0.05$), 其他差异不显著 ($P>0.05$)。

表 1: 人参总皂苷合黄连小檗碱对慢性心衰大鼠心肌细胞蛋白重链表达的影响 ($n=8$)

组别	VEGF mRNA ($2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$)	Neuropilin-2 mRNA ($2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$)
模型组	1.00 ± 0.08	0.31 ± 0.07
卡托普利组	1.83 ± 0.06	1.17 ± 0.09
GS+Ber 组	2.54 ± 0.04	1.85 ± 0.11
正常对照组	3.67 ± 0.05	2.88 ± 0.24

注: 秩和检验, ^a $P<0.05$ vs 模型组; ^b $P<0.01$, ^c $P<0.05$ 与对照组相比。

3. 讨论

人参和黄连均具有良好调和心脾功效, 临床广泛使用人参与黄连配伍治疗慢性心衰。研究表明, GS 对脂质代谢有一定调节作用, 以起到抗动脉粥样硬化功能, 同时可以有效保护心肌, 使血流动力学改善以起到强心作用^[5, 6]。Ber 对心衰的心脏可起正性肌力作用, 有潜在慢性心衰治疗价值^[4]。GS 合 Ber 组可发挥中医方剂配伍优势, 适宜治疗脾虚痰热和慢性心衰等证。

研究结果表明, GS+Ber 组大鼠 VEGF、Neuropilin-2 的表达上调, 在统计学上有意义 ($P<0.05$), 证明 GS+Ber 能够起到增加 VEGF、Neuropilin-2 表达, 既可以促进内皮细胞存活, 增殖并且迁移又可以促进受损组织血管生成和生长, 对心肌细胞生物学性能有良好影响, 从而起到治疗慢性心衰的作用。

参考文献

- [1] 齐艳涛, 徐卫国. 神经纤毛蛋白的研究进展 [J]. 河北联合大学学报 (医学版), 2016, 02:165-169.
- [2] 史海波. 丹参多酚酸盐和三七总皂诱导血管新生作用及对大鼠心肌缺血的保护作用 [D]. 南京医科大学, 2015.
- [3] 李京佳, 林相国, 许涛, 徐万海, 王晓民. VEGF 家族及其在肿瘤生长中作用的研究 [J]. 现代生物医学进展, 2012, 04:777-779+701.
- [4] 倪效, 燕敏. VEGF 受体功能研究进展 [J]. 生命科学, 2008, 01:120-124.
- [5] 付双全. 人参的心血管作用药理学研究进展 [J]. 长春中医药大学学报, 2012, 28(2):357-359.
- [6] 杨勇, 张保顺, 曹春芽等. 小檗碱的心血管药理活性 [J]. 中成药, 2011, 33(5):867-869.