

应及脾细胞增殖反应能力具有明显的改善作用,提示 3A 对衰老所致免疫功能低下具有明显的改善作用

以上结果表明,3A 对多种原因造成的免疫功能低下均具有明显的改善作用,提示 3A 是 LW 发挥免疫调节作用的主要活性部位之一。因此,结合对 3A 组分的分离鉴定研究,对其作用机制进行深入的研究,不仅有助于进一步说明 LW 的免疫调节作用机制,而且对开发新型中药复方也具有实际意义。

参考文献:

[1] 李 萍,石晓红,王凤连. 六味地黄丸和地黄的免疫药理研究 [J]. 中国免疫学杂志, 1987, 3(5): 296-298.

- [2] 贾泰元. 六味地黄丸的免疫调节作用 [J]. 中成药, 1994, 16 (9): 34-35.
- [3] 聂 伟,张永祥. 六味地黄方的现代药理学研究进展 [J]. 中药药理与临床, 1998, 14(5): 41-44.
- [4] 聂 伟,张永祥,茹祥斌,等. 六味地黄汤免疫调节活性成分化学分离的药理学导向评价 [J]. 中国中西医结合杂志, 1998, 18 (5): 287-289.
- [5] 杨 胜,张永祥,吕晓东,等. 六味地黄汤醇溶部分免疫活性成分化学分离的药理学导向分离评价 [J]. 中药药理与临床, 2000, 16(3): 1-3.
- [6] 刘福君,赵修南,聂 伟,等. 地黄低聚糖增强小鼠免疫功能的作用 [J]. 中国药理学通报, 1998, 14(1): 90-93.
- [7] 钱玉昆. 实用免疫学新技术 [M]. 北京: 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1994.
- [8] 聂 伟,张永祥. 快速老化小鼠 研究衰老及衰老相关疾病的动物模型 [J]. 中国药理学通报, 2000, 16(2): 132-137.

水杉总黄酮抗实验性心肌肥厚及抑制心室 c-Fos 蛋白表达的作用

刘维莞¹,杨晓茹¹,屠治本²,石明健¹,糜留西²,王红英¹,敖 英^{1*}

(1. 武汉大学医学院 药理学教研室,湖北 武汉 430071; 2. 中国科学院武汉植物研究所,湖北 武汉 430074)

摘要:目的 观察水杉总黄酮(TFM)对容量超负荷大鼠心肌肥厚的作用及其对心室 c-Fos 蛋白表达的影响。方法 采用腹腔动-静脉造瘘建立大鼠容量超负荷模型,ig 给予 TFM,免疫组化测定心室 c-Fos 蛋白的相对含量。结果 TFM 剂量依赖性地减轻大鼠心脏重量,抑制心室 RNA 和蛋白质合成,并抑制心室 c-Fos 蛋白表达。结论 TFM 可预防容量超负荷大鼠心肌肥厚的形成,抑制心室 c-Fos 蛋白表达可能是其分子机制之一。

关键词:水杉总黄酮;容量超负荷;心肌肥厚;c-Fos

中图分类号: R972. 4; R932. 5 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253- 2670(2001) 04- 0329- 04

Inhibitory effects of total flavones of *Metasequoia glyptostroboides* on experimental cardiac hypertrophy and expression of c-Fos protein in ventricle

LIU Wei-wan¹, YANG Xiao-ru¹, TU Zhi-ben², SHI Ming-jian, MI Liu-xi², WANG Hong-ying¹, AO Ying¹

(1. Department of Pharmacology, Medical College of Wuhan University, Wuhan Hubei 430071, China; 2. Wuhan Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Wuhan Hubei 430074, China)

Abstract **Object** To observe the effects of total flavones of *Metasequoia glyptostroboides* Hu et Cheng (TFM) on volume-overload cardiac hypertrophy and the expression of c-Fos protein in rat. **Methods** Volume-overload cardiac hypertrophy of rat was induced by aortocaval shunts. The rats were given ig TFM (400, 40 and 4 mg/kg/d). c-Fos protein in the ventricles were measured by immunocytochemical study. **Results** TFM at the above dosage decreased heart weight and contents of RNA and protein in the myocardium, inhibited the expression of c-Fos protein in the ventricles. **Conclusion** TFM can prevent volume-overload cardiac hypertrophy in rats. The inhibitory effects on the expression of c-Fos protein may be its mechanism in the molecular level.

Key words total flavones of *Metasequoia glyptostroboides* Hu et Cheng (TFM); volume-overload; cardiac hypertrophy; c-Fos

水杉总黄酮 (Total Flavones of *Metasequoia glyptostroboides* Hu et Cheng, TFM) 是从古老的杉属植物中提取的活性部位,其药理作用国内外少见

报道。我室初步研究表明,TFM 具有钙拮抗作用,可防治心律失常^[1]。心肌肥厚,作为心血管疾病的独立危险因素已形成共识。近年来,防治心肌肥厚的药

* 收稿日期: 2000-06-18

基金项目: 国家自然科学基金资助课题 (NO. 39970085)

物研究进展迅速,但仍然不能满足临床需求。本文研究 TFM 对容量超负荷大鼠心肌肥厚的作用,并选取心室 c-Fos 蛋白表达的高峰时间,观察 TFM 对其影响,从分子水平探讨该药的作用机制

1 材料与方法

1.1 药品、试剂与动物: TFM 由中国科学院武汉植物研究所 1998 年 1 月提取;卡托普利 (Captopril) 系上海施贵宝制药有限公司产品,批号 97120; c-Fos 免疫组化染色试剂盒购自武汉博士德公司。♂ Sprague Dawley 大鼠,体重 180~220 g,由湖北医科大学实验动物中心提供

1.2 大鼠容量超负荷模型的建立^[2]: 大鼠麻醉后开腹,分离出腹主动脉和下腔静脉,血管夹阻断血流斜向上刺穿静脉壁,继续进针刺穿静脉联合壁退出针头,缝合静脉壁的创口。松开血管夹,下腔静脉变红证实造瘻成功。假手术 (SO) 组除不造瘻外,其余过程相同。

1.3 实验分组与指标测定: 35 只大鼠随机分为 5 组,分别于术前及术后 1、4、12 和 24 h 麻醉后取出心脏;另取 84 只大鼠随机分为 6 组,于术前 0.5 h TFM 高、中、低剂量组和阳性药物对照组分别 ig

表 1 TFM 对大鼠心肌肥厚的影响

组别	剂量 (mg/kg·d)	例数	VW/BW (mg/g)	RNA 含量 (mg/g)	蛋白含量 (mg/g)
假手术组	-	8	2.73±0.32	0.75±0.16	69.50±14.93
肥厚模型	-	7	4.03±0.16*	1.26±0.20*	99.22±10.69*
TFM	400	7	3.17±0.43 ^{△△}	0.88±0.27 ^{△△}	75.45±12.57 ^{△△}
	40	8	3.40±0.44 ^{△△}	0.93±0.19 ^{△△}	84.34±12.21 ^{△△}
	4	7	3.89±0.15	1.20±0.36	92.18±6.38
卡托普利	50	8	2.97±0.44 ^{△△}	0.93±0.17 ^{△△}	79.83±8.17 ^{△△}

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与肥厚组比较: $\Delta\Delta P < 0.01$

2.2 容量超负荷大鼠心室 c-Fos 蛋白表达的时间进程: 正常大鼠心室未见 c-Fos 阳性细胞,容量超负荷大鼠不同程度地发生阳性反应 (图 1~4),可见胞核内有深褐色颗粒,呈圆形或卵圆形。由图 5 可见,动-静脉造瘻术后 1 h 大鼠心室 c-Fos 开始表达,4 h 高峰,12 h 有所降低,24 h 仍有少量表达。

2.3 TFM 对容量超负荷大鼠心室 c-Fos 蛋白表达的影响: 选取动-静脉造瘻术后大鼠心室 c-Fos 蛋白表达的高峰时间 (术后 4 h),观察 TFM 对其影响。由图 1~4 和图 6 可见 AVF 组平均吸光度为 SO 组的 3.3 倍。与 AVF 组相比,TFM 高、中、低剂量组阳性细胞数减少,平均吸光度分别降低 48.8% ($P < 0.01$)、33.58% ($P < 0.01$) 和 10.12% ($P > 0.05$)。

3 讨论

TFM 400、40 和 4 mg/(kg·d) 和 Captopril 50 mg/(kg·d) SO 组和肥厚模型 (AVF) 组均给予等体积生理盐水。其中半数动物术后 4 h 取出心脏,快速一步法抽提心肌组织总 RNA^[3]。标本用中性福尔马林固定,常规石蜡包埋切片,SP 法^[4]进行 c-Fos 免疫组化染色,并以 IBSA-2000 图像处理系统测定单位视野的平均吸光度,间接反映 c-Fos 蛋白的相对含量。

1.4 统计学分析: 全部数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异比较采用方差分析和 LSD 法进行显著性测定。

2 结果

2.1 TFM 对心室重量、RNA 及蛋白质含量的影响: 由表 1 可见,与 SO 组相比,肥厚模型组心室重量、RNA 及蛋白质含量均显著增加 ($P < 0.01$)。与肥厚模型组相比,TFM 高、中、低剂量组分别降低左室重量 (VW/BW) 为 21.80% ($P < 0.01$)、14.79% ($P < 0.01$) 和 2.51% ($P > 0.05$)。心室 RNA 含量分别降低 29.84% ($P < 0.01$)、26.24% ($P < 0.01$) 和 4.30% ($P > 0.05$)。蛋白质含量分别降低 23.96% ($P < 0.01$)、14.88% ($P < 0.01$) 和 7.10% ($P > 0.05$)。



图 1 免疫组化染色 正常对照 (×200)

心脏重量参数是衡量是否发生心肌肥厚最直观的指标之一,TFM 抑制心脏重量参数的增加,减少心肌组织 RNA 和蛋白质含量,并具有一定剂量依赖关系,表明 TFM 可预防容量超负荷大鼠心肌肥厚的形成。

本实验采用腹腔动-静脉造瘻建立大鼠容量超

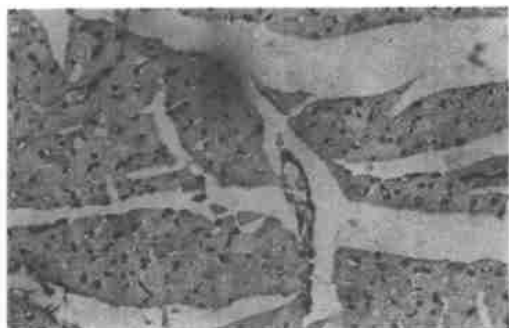


图 2 免疫组化染色 术后 4 h($\times 200$)

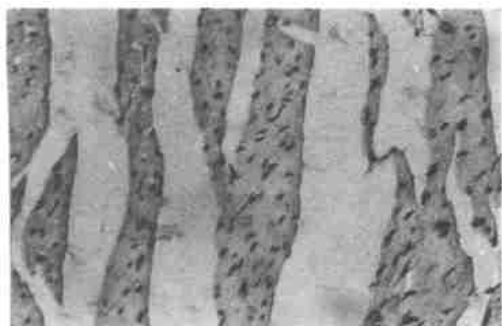


图 3 免疫组化染色 动静脉瘘组($\times 200$)

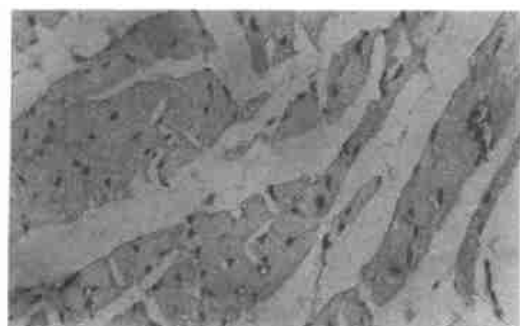
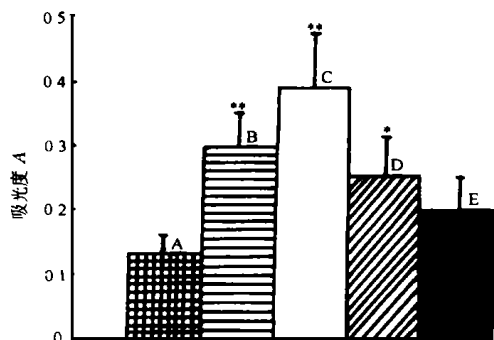


图 4 免疫组化染色 TFM 高剂量组($\times 200$)



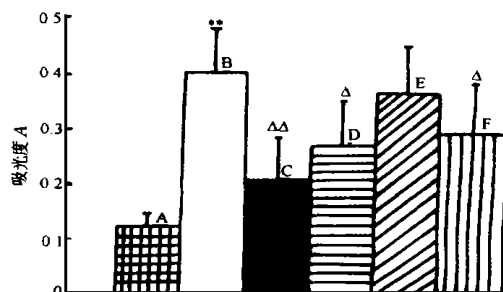
与正常组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

A 正常组; B 术后 1 h; C 术后 4 h;

D 术后 12 h; E 术后 24 h

图 5 容量超负荷大鼠心室 c-Fos 蛋白的表达

负荷模型,并选取心室 c-Fos 蛋白表达的高峰时间(术后 4 h)观察 TFM 对其影响,结果发现 TFM 呈剂量依赖性地抑制容量超负荷大鼠心室 c-Fos 蛋白



与假手术组比较: ** $P < 0.01$;

与肥厚模型组比较: $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$

A 假手术组; B 肥厚模型组; C-TFM 400 mg/kg

D-TFM 40 mg/kg; E-TFM 4 mg/kg; F 卡托普利

图 6 TFM 对容量超负荷大鼠心室 c-Fos 蛋白表达的影响

的表达 c-Fos 是立即早期基因之一,心脏前负荷增加可导致心室 c-Fos 表达增高。Kolbeck-Ruhmkorff 利用大鼠离体工作心脏模型,发现提高左房充盈压后 30 min c-Fos mRNA 快速表达,120 min 后开始降低^[5]。临床对房间隔缺损患者的研究表明,心房及心室的 c-Fos c-myc 均被激活^[6],本研究与以上实验结果基本一致。过度表达的 c-Fos 蛋白作为核内转录因子,作用于 ANF β -MHC 等晚期应答基因的调控序列,使心肌组织蛋白合成,蛋白表型向“胚胎型”转化,从而在心肌肥厚的发生、发展中发挥重要作用^[7]。因此,TFM 抑制早期应答基因 c-Fos 的表达,从而阻滞心肌细胞的过度增殖,可能是其预防容量超负荷大鼠心肌肥厚的机制之一。此外, Ca^{2+} 超负荷是心肌肥厚发生的重要环节,心脏负荷增加可通过 Ang II 或直接刺激 Ca^{2+} 通道开放,使细胞内 Ca^{2+} 浓度增高,作为第二信使诱导 c-Fos 表达。故推测 TFM 抑制 c-Fos 蛋白的表达,可能与我室前期研究证实的 TFM 的 Ca^{2+} 通道阻滞作用有关。当然,TFM 也可能直接调控 c-Fos 的转录等环节。综上所述,TFM 抑制 c-Fos 蛋白表达的作用可能是预防容量超负荷大鼠心肌细胞增殖的分子机制之一,但蛋白的改变是否与钙拮抗等机制直接相关,还有待进一步证实。

参考文献:

- [1] 程虹,刘惟莞,陈翔,等. 水杉总黄酮抗实验性心律失常的作用[J]. 湖北医科大学学报, 1999, 20(1): 28-29.
- [2] 杨晓茹,王怀鹏,刘惟莞,等. 大鼠容量超负荷模型复制方法的改进[J]. 中国药理学通报, 1999, 15(5): 477-478.
- [3] 陈铁华,凌琦,郭兆英,等. 快速一步法抽提心肌组织总 RNA[J]. 湖南医科大学学报, 1996, 21: 14-16.
- [4] 倪灿容. 免疫组化实验新技术及应用[M]. 北京: 科学技术出版社, 1994.
- [5] Kolbeck-Ruhmkorff C, Horban A, Zimmer H G. *et al.* Effects of pressure and volume overload on proto-oncogene expression

- in the isolated working rat heart [J]. Cardiovasc Res, 1993, 27: 1998-2004.
- [6] Jegadeesh B G, Prabhakar R, Kartha C C, *et al.* Expression of proto-oncogenes, gene for muscle specific isoforms and heart shock protein (HSP)-70 gene in hypertrophied cardiac muscles from patients with atrial septal or tetralogy of Fallot [J]. Biochem Mol Biol Int, 1994, 34: 627-637.
- [7] Sadoshima J, Jahn L, Takahashi T, *et al.* Molecular characterization of the stretch-induced adaptation of cultured cardiac cells: An in vitro model of load-induced cardiac hypertrophy [J]. J Biol Chem, 1992, 267: 10551-10560.

黄芪苷IV对正常和心功能受抑制大鼠左心室心肌力学的影响

刘艳霞, 刘在萍, 焦建杰, 娄建石*

(天津医科大学基础医学院 药理学教研室, 天津 300070)

摘要: 目的 研究黄芪苷IV对正常和心功能受抑制大鼠左心室心肌力学的效应。方法 采用左心室导管法,测定左心室压力(LVP)及其微分(dp/dt),对iv黄芪苷IV(1 mg/kg)对左心室心肌力学的效应。iv普萘洛尔(0.75 mg/kg)抑制大鼠心功能,观察黄芪苷IV的对抗作用。结果 黄芪苷IV使心率(HR)略有减慢;使左室压力上升最大速度(dp/dt_{max})明显提高,具有正性肌力作用;使左室压力下降的时间常数(T)显著缩短,改善心脏舒张功能;左心室射血的张力-时间指数(TTI)无明显改变,表明该药在增强心肌收缩力的同时并未增加心肌耗氧量。对普萘洛尔抑制心功能的大鼠,用黄芪苷IV后 dp/dt_{max} 无显著降低,即该药可对抗普萘洛尔抑制心肌收缩力的作用; T 值显著缩短,表明心脏舒张功能也有改善;心肌耗氧量不增加。结论 黄芪苷IV可改善心脏收缩及舒张功能,可望成为一种强心和改善心功能的药物。

关键词: 黄芪;黄芪苷IV;普萘洛尔;心肌力学;心功能

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)04-0332-03

Effects of astragaloside IV on myocardial dynamics and cardiac function with normal and depressant cardiac function in rats

LIU Yan-xia, LIU Zai-ping, JIAO Jian-jie, LOU Jian-shi

(1. Department of Pharmacology, Tianjin University of Medical Sciences, Tianjin 300070, China)

Abstract **Object** To study the effects of astragaloside IV, which was obtained from *Astragalus membranaceus* Bge., on myocardial dynamics and cardiac function on normal and cardiac depressant rat. **Methods** Left ventricular pressure (LVP) and differential value of dp/dt were recorded by left ventricular catheterization to observe the effect of 1 mg/kg iv astragaloside IV on normal and cardiac depressant rat induced by iv 0.75 mg/kg of Propranolol. **Results** Astragaloside IV decreased heart rate slightly, and showed inotropic activity by increasing dp/dt_{max} significantly, with improvement of cardiac diastolic function. It shortened the time constant (T) and caused no obvious change on the tension time index (TTI) in normal rat. These results suggested that astragaloside IV did not increase cardiac oxygen consumption while exerting its inotropic effect. **Conclusion** Astragaloside IV can improve both cardiac systolic and diastolic functions, and may be used as a candidate for the treatment of cardiac disfunction.

Key words *Astragalus membranaceus* Bge.; astragaloside IV; Propranolol; myocardial dynamics; cardiac functions

慢性心衰的发病率及病死率均较高,严重危害人类健康。传统治疗药物如强心苷在疗效和副作用等方面都存在明显的不足,因此急需开发研制新药。近年来,随着对慢性心衰发病机制认识的不断加深,对治疗慢性心衰药物的研究也不仅限于单纯开发正性肌力药物,而注意到改善心脏舒张功能、调节磷酸

二酯酶(PDE)、腺苷酸环化酶、G蛋白各环节,及减轻心肌肥大、重构^[1-4]等。

黄芪 *Astragalus membranaceus* Bge. 是一种常用于治疗心衰的中药,始载于《神农本草经》,有补气升阳、利水消肿之功效。据报道黄芪可明显改善心衰患者的心功能,加强心肌收缩力,增加心输出量。每