

可能是通过抑制 MAO-B 来实现的^[6,7]。有研究证明 nNOS 基因缺陷突变小鼠可以抵抗 MPTP 的神经毒性,表现为纹状体和黑质的损伤明显减轻^[7]。抑制 nNOS 可以减轻 MPTP 的毒性作用^[8]。这些研究为 NO 参与 PD 的发病机制提供了证据。还有研究发现 NO 促进 MPP⁺ 对多巴胺能神经元和培养的星型胶质细胞的毒性作用^[9]。给予单剂量 MPTP 4~12 h 后, nNOS 活性在纹状体增高, MPTP 的毒性作用表现为 NO 及 ONOO⁻ 增高^[10]。

本研究发现小鼠 sc MPTP 20 mg/kg 连续 8 d, 与 NS+NS 组比较, MPTP+NS 组尾核内的 NOS 免疫反应阳性神经元数目明显增加 ($P < 0.01$), 脑内黑质致密部的多巴胺能神经元数目明显减少 ($P < 0.01$)。同时 MPTP+NS 组小鼠运动协调能力降低。而 MPTP+SVHRP 与 NS+NS 组比较没有明显变化。MPTP+SVHRP 组动物黑质致密部多巴胺能神经元受损程度明显减轻, 动物的运动障碍明显改善, 这可能与 SVHRP 明显抑制尾核内 nNOS 的过度表达有关。前期体外实验证实 SVHRP 有明显的抗氧化和清除自由基作用, 但体内抗氧化机制尚不清楚。本研究还发现 SVHRP 一方面可以保护中脑黑质致密部多巴胺能神经元; 另一方面通过降低纹状体 nNOS 的表达改善 MPTP 引起的运动协调性降低, 有良好的治疗作用。逆转 MPTP 引起的尾核 nNOS 免疫反应活性增强。NO 是学习记忆中的重要信号转导分子, 参与学习记忆

的功能调控。所以 NO 很可能参与其保护机制。

References:

- [1] Xu D L, Chen S D, Liu Z G. *Clinical Advanced Technique in Parkinson's Disease* (帕金森病临床新技术) [M]. Beijing: People's Military Medical Press, 2002.
- [2] Heikkila K E, Manzino L, Cabbat F S, et al. Protection against the dopaminergic neurotoxicity of 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine by monoamine oxidase inhibitors [J]. *Nature*, 1984, 311: 467-469.
- [3] Christopherson K S, Hillier B J, Lim W A, et al. PSD-95 Assembles a ternary complex with the N-methyl-D-aspartic acid receptor and a bivalent neuronal NO synthase PDZ domain [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274: 27467-27473.
- [4] Tipson K F, Singer T P. Advances in our understanding of the mechanisms of the neurotoxicity of MPTP and related compounds [J]. *J Neurochem*, 1993, 61: 1191-1206.
- [5] Donnan G A, Willis G L, Kaczmarczyk S J, et al. Motor function in the 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine-treated mouse [J]. *J Neurosci*, 1987, 77: 185-191.
- [6] Hijiiri W, Yasuko M, Rumiko K, et al. Protective effects of neuronal nitric oxide synthase inhibitor in mouse brain against MPTP neurotoxicity: an immunohistological study [J]. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2004, 14: 93-104.
- [7] Matthews R T, Beal M F, Fallon J, et al. MPP⁺ induced substantia nigra degeneration in attenuated in nNOS knock-out in mice [J]. *Neurobiol Dis*, 1997, 4: 114-121.
- [8] Hantraye P, Brouillet E, Ferrante R, et al. Inhibition of neuronal nitric oxide synthase prevents MPTP-induced-parkinsonism in baboons [J]. *Nat Med*, 1996, 2: 1017-1021.
- [9] Santiago M, Machado A, Cano J. Effect of L-arginine/nitric oxide pathway on MPP (1)-induced cell injury in the striatum of rats [J]. *Br J Pharmacol*, 1994, 111: 837-842.
- [10] Halász A S, Pálfi M, Tábi T, et al. Altered nitric oxide production in mouse brain after administration of 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine or methamphetamine [J]. *Neurochem Internat*, 2004, 44: 641-646.

大明胶囊对高脂血症大鼠心肌 M 受体各亚型 mRNA 表达的影响

邢 妍, 岳 朋, 李 惠, 张 勇, 林道红, 董德利, 吕延杰, 杨宝峰*

(哈尔滨医科大学 药理教研室, 黑龙江省生物医药工程重点实验室-省部共建国家重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:目的 通过检测 M 受体各亚型在心肌上的 mRNA 表达量, 研究大明胶囊对高脂血症大鼠降血脂作用的分子机制。方法 制备高脂血症大鼠模型, 尾静脉取血清测血清中的总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、低密度脂蛋白 (LDL)、高密度脂蛋白 (HDL)、游离脂肪酸 (FFA)、丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD) 等血脂指标; Trizol 法提取心肌总 RNA, 利用逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 测定 M₂、M₃、M₄、M₅ 4 种 M 受体亚型 mRNA 的表达, 观察其在高脂、正常和给药 3 种条件下的差异。结果 高脂血症时血清中的 TC、TG、LDL、FFA 及 MDA 水平升高 ($P < 0.05$), HDL 与 SOD 降低 ($P < 0.05$), 经大明胶囊治疗后 TC、TG、LDL、FFA 及 MDA 水平降低 ($P < 0.05$), HDL 与 SOD 水平上调 ($P < 0.05$) 至近正常水平; 比较高脂模型组与正常组 M 受体各亚型 mRNA 表达, 结果 M₂、M₄、M₅ 受体亚型表达减弱, M₃ 受体亚型表达增强, 差别有统计学意义 ($P < 0.05$)。给大明胶囊后与高脂模型组比较 M₃ 受体亚型 mRNA 表达增强, M₂ 受体亚型表达减弱, 且具有显著差异 ($P < 0.05$), M₄、M₅ 受体亚型 mRNA

收稿日期: 2006-01-27

基金项目: 重大基础研究前期专项 (2004CCA06700)

作者简介: 邢 妍 (1981—), 女 (蒙古族), 辽宁阜新人, 硕士在读, 研究方向为心血管药理学。Tel: (0451) 86671354

* 通讯作者 杨宝峰 Tel: (0451) 86671354 E-mail: yangbf@ems.hrbmu.edu.cn

表达无显著差异 ($P>0.05$)。结论 高脂血症大鼠模型建立成功,大明胶囊具有降血脂作用,并且 M_3 受体的水平上调是大明胶囊降血脂作用的分子机制之一。

关键词:大明胶囊; M 受体; 高脂血症; RT-PCR

中图分类号:R286.26

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2006)09-1362-05

Effect of Daming Capsule on mRNA expression of M receptor's different isoforms on cardiac muscle of hyperlipidemic rats

XING Yan, YUE Peng, LI Hui, ZHANG Yong, LIN Dao-hong,
DONG De-li, LÜ Yan-jie, YANG Bao-feng

(Department of Pharmacology, Bio-pharmaceutical Key Laboratory of Heilongjiang Province-Incubator
of State Key Laboratory, Harbin Medical University, Harbin 150086, China)

Abstract: Objective To seek the molecular mechanism of decreasing blood lipid effect of Daming Capsule on hyperlipemic rat via studying the mRNA expression of the subtypes of M receptor in the myocardium. **Methods** Hyperlipemic rat model was made firstly, the blood was obtained via vena caudalis, the indexes in the serum, such as TC, TG, LDL, HDL, FFA, MDA, and SOD, were measured, the myocardial total RNA was extracted by Trizol method, the difference of the four subtypes of M receptor M_2 , M_3 , M_4 , and M_5 mRNA expression in three groups of hyperlipemia, normal, and drug administration was compared by RT-PCR. **Results** The concentrations of TC, TG, LDL, FFA, and MDA in serum increased ($P<0.05$), while the levels of HDL and SOD decreased ($P<0.05$). After the treatment by Daming Capsule, the concentrations of the preceding four indexes cut down, while the concentrations of the post two ones went up to nearly normal level. The mRNA expressions of each subtype of M receptor between the hyperlipemia group and normal group were compared, the expression of M_2 , M_4 , and M_5 receptors decreased ($P<0.05$), while the expression of M_3 increased ($P<0.05$), there were significant statistical differences among them. The level of M_3 receptor increased ($P<0.05$), but M_2 receptor decreased ($P<0.05$) after giving Daming Capsule comparing with hyperlipemia group. Moreover, the differences have statistical significance. the expression of M_4 and M_5 receptor mRNA have no significance difference ($P>0.05$). **Conclusion** Hyperlipemic rat model is successfully established. Daming Capsule has the effect of lowering blood lipid. Furthermore, the increasing the expression of M_3 receptor is one of the mechanisms that Daming Capsule decreases the blood lipid.

Key words: Daming Capsule; M receptor; hyperlipemia; RT-PCR

大明胶囊是本室研制已经上市的降脂新药,有明确的降血脂作用。除降血脂作用之外,本室研究还发现大明胶囊具有治疗心肌缺血、心肌梗死、脑梗死、降血糖的作用,但是缺乏对其分子机制的深入研究。药物的作用机制是通过药物与机体生物大分子之间的相互作用完成的,而生物大分子中的受体是药物作用的关键环节之一,因此受体结构与功能的研究成为近年来探索药物作用机制的重点。而心肌上存在 $M_1\sim M_5$ 5 种受体亚型,在心肌许多重要的生理和病理生理过程中发挥重要的作用,是药物作用的靶点^[1],其中 M_3 受体在缺血心肌保护方面具有重要意义^[2,3],大明胶囊作为一种新型降血脂药物其作用机制是否与心肌上的受体有关尚未得到证实。因此,本实验通过检测 M 受体各亚型 mRNA 表达变化揭示高脂血症时 $M_2\sim M_5$ 受体发挥的作用,进而阐明大明胶囊的降血脂作用与心肌 M 受体之间

的关系。

1 材料

1.1 动物:选用 Wistar 雄性大鼠 40 只,体重 180~200 g,购自哈尔滨医科大学动物学部。

1.2 药物:大明胶囊(大黄、明子、陈皮、人参、茯苓),为哈尔滨伊达药业有限公司产品,国药准字 Z 20030085,产品批号 20040702;丙基硫氧嘧啶购自上海复兴朝晖药业有限公司,国药准字 H 31021082,产品批号 20041203;戊巴比妥钠购自上海化学试剂采购供应站。

1.3 试剂:总胆固醇(TC)试剂盒、甘油三酯(TG)试剂盒、低密度脂蛋白(LDL)试剂盒、高密度脂蛋白(HDL)试剂盒购自浙江东瓯生物工程有限公司,游离脂肪酸(FFA)试剂盒、丙二醛(MDA)试剂盒、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒购自南京建成生物工程研究所。总 RNA 提取试剂盒

是 Invitrogen 试剂公司产品,RT-PCR 试剂盒从 Invitrogen 试剂公司和宝生物工程(大连)有限公司购买。

1.4 仪器:PCR 仪(美国 BIO-RAD 公司),低温高速离心机(BECKMAN 公司,CS—15R),水平电泳仪(美国 BIO-RAD 公司),紫外分光光度计(美国 BIO-RAD 公司,Smart Spec™ 3000),天能 GIS 凝胶图像处理系统(上海天能科技有限公司)。

2 方法

2.1 高脂动物模型的制备^[4]:用脂肪乳(胆固醇 1%、动物大油 20%、丙基硫氧嘧啶 1%、丙二醇 30%、聚山梨酯-80 20%、其他 20%)按照 10 mL/kg 给 14 d。

2.2 分组:健康雄性 Wistar 大鼠 40 只随机分成 5 组:正常组,高脂模型组,大明胶囊大、中、小剂量组,每组 8 只。高脂组 ig 脂肪乳,大明胶囊组 ig 脂肪乳和 大明胶囊[200、100、50 mg/(kg·d)]。正常组 ig 同等体积生理盐水。给药剂量参见文献方法^[5]。

2.3 样品采集及测定:第 14 天 ig 给药后禁食,不禁水。第 15 天尾静脉取血。3 000 r/min 离心 5 min 分离血清,按试剂盒方法测定 TC、TG、LDL、HDL、FFA、MDA、SOD。

2.4 半定量 RT-PCR

2.4.1 总 RNA 的提取:尾静脉取血测定血清指标确定模型制备成功之后,1% 戊巴比妥钠 ip 麻醉(4 mL/kg),取下心脏,左心室剪成 0.5 mm×0.5 mm 大小的组织块液氮冻存,-80℃ 保存组织块;一步提取法提取心室肌总 RNA。各总 RNA 样本 A₂₆₀/A₂₈₀ 的比值为 1.8~2.0。

2.4.2 扩增引物设计与合成:根据 Genbank 的序列,并参考相关文献方法^[6],用 Primer 5.0 软件分别设计 M₂、M₃、M₄、M₅、β-actin,并由上海申能博彩生物科技有限公司合成。引物序列如下:M₂上游引

物:5'TACCCTCTACACTGTGATTGGC3',M₂下游引物:5'ATGATGACAGGCAGATAG3'(364 bp);M₃上游引物:5'GTGGTGTGATGATTGG-TCTG3',M₃下游引物:5'TCTGCCGAGGAGTT-GGTGTC3'(790 bp);M₄上游引物:5'AGTGCTT-CATCCAGTTCTTGTCCA3',M₄下游引物:5'CA-CATTTCATTGCCTGTCTGCTTTG3'(510 bp);M₅上游引物:5'CTCATCATTTGGCATCTTCTC-CA3',M₅下游引物:5'GGTCCTTGGTTCG-CTTCTCTGT3'(451 bp);β-actin 上游引物 5'CCGTAAAGACCTCTATGCCAACA3',下游引物 5'CGGACTCATCGTACTCCTGCT3'(250 bp)。

2.4.3 PCR 反应条件:94℃、2 min,首次循环 94℃、30 s,55℃、30 s,72℃、30 s。各引物均做循环梯度选择平台期之前的最适宜的循环数,M₂ 29 个循环、M₃ 31 个循环、M₄ 34 个循环、M₅ 31 个循环、β-actin 28 个循环,PCR 产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,以 BIO-RAD 多媒体凝胶成像系统照相,并进行半定量分析。

3 结果

3.1 模型制备结果:造模第 1~5 天高脂模型组和给药组体重普遍减轻 30~50 g,进食少,活动情况差,正常组无变化,直到第 14 天给药组体重明显恢复,活动情况改善,而高脂模型组无明显改变。

3.2 血清指标测定结果

3.2.1 对血脂指标的影响:如表 1 所示,三组间单因素方差分析正常组与高脂模型组,高脂模型组与大明胶囊大剂量组和中剂量组 TC、TG、LDL、HDL、FFA 均有显著性差异,而大明胶囊小剂量组与高脂模型组无统计学意义。高脂模型组血脂代谢紊乱表明高脂模型建立成功,大明胶囊大剂量、中剂量组血脂恢复接近正常,而小剂量组无变化,表明大明胶囊具有降血脂作用并且有剂量依赖性。

表 1 大明胶囊对高脂血症大鼠血清血脂指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 1 Effect of Daming Capsule on blood lipid indexes in serum of hyperlipemic rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	TC/(mmol·L ⁻¹)	TG/(mmol·L ⁻¹)	LDL/(mmol·L ⁻¹)	HDL/(mmol·L ⁻¹)	FFA/(mmol·L ⁻¹)
正常	—	1.91±0.38***	0.49±0.09***	0.81±0.11***	0.85±0.16***	0.13±0.04***
模型	—	3.94±0.43	0.88±0.15	2.15±0.43	0.47±0.13	0.54±0.16
大明胶囊	200	2.56±0.40*	0.61±0.16*	0.94±0.17*	0.73±0.25*	0.25±0.08**
	100	3.38±1.13*	0.61±0.16*	1.34±0.73*	0.60±0.11*	0.37±0.05*
	50	3.67±0.91	0.82±0.11	1.92±0.54	0.51±0.32	0.52±0.94

与模型组比较: *P<0.05 **P<0.01 ***P<0.001

*P<0.05 **P<0.01 ***P<0.001 vs model group

3.2.2 对 MDA 和 SOD 的影响:如表 2 所示,正常组与高脂模型组,高脂模型组与大明胶囊大剂量组

和 大明胶囊中剂量组有显著性差异,而大明胶囊小剂量组无统计学意义。表明高脂血症时 SOD 活力

显著减弱,MDA 水平显著升高,产生氧自由基损伤心肌组织。经大明胶囊治疗后血清 SOD、MDA 恢复并接近正常水平,证明大明胶囊的降血脂作用是通过清除体内氧自由基实现的。

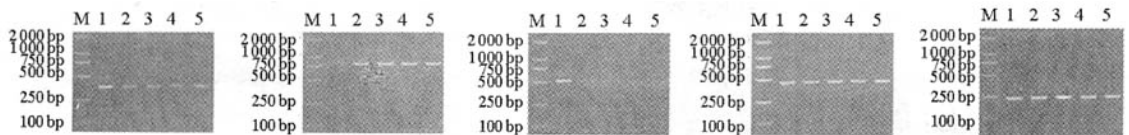
表 2 大明胶囊对高脂血症大鼠血清 MDA 水平和 SOD 活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 2 Effect of Daming Capsule on MDA level and SOD activity in serum of hyperlipemic rats ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	MDA/(nmol·L ⁻¹)	SOD/(U·mL ⁻¹)
正常	—	5.25±0.25**	122.69±20.98**
模型	—	8.74±1.40	76.39±15.07
大明胶囊	200	4.24±0.90*	118.85±13.85**
	100	6.59±0.40*	103.81±13.21*
	50	8.09±1.00	60.74±28.04

与模型组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs model group



M-Marker 1-正常组 2-模型组 3~5-大明胶囊(200、100、50 mg/kg)组

M-Marker 1-normal group 2-model group 3-5-Daming Capsule (200, 100, and 50 mg/kg) group

图 1 大明胶囊对 M₂(A)、M₃(B)、M₄(C)、M₅(D) 受体 mRNA 表达及 β -actin (E) 的影响

Fig. 1 Effect of Daming Capsule on mRNA expression of M₂(A), M₃(B), M₄(C), and M₅(D) receptors and β -actin (E)

表 3 大明胶囊对心肌 M 受体 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 3 Effect of Daming Capsule on mRNA expressions of cardiac muscle M receptor ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	M ₂ /β-actin	M ₃ /β-actin	M ₄ /β-actin	M ₅ /β-actin
正常	—	1.19±0.22**	0.75±0.21**	1.02±0.14**	1.05±0.15**
模型	—	0.89±0.03	0.90±0.01	0.80±0.02	0.98±0.01
大明胶囊	200	0.77±0.11*	1.15±0.12**	0.76±0.17	0.95±0.14
	100	0.80±0.24*	1.12±0.13*	0.83±0.12	0.98±0.11
	50	0.88±0.02	0.90±0.02	0.76±0.04	0.99±0.02

与模型组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs model group

连锁引起机体脂质过氧化物的增多,分解产生大量的 MDA。自由基是机体代谢过程中连续不断产生的损害自身的物质,但是机体有一系列清除自由基的途径,如体内的 SOD 在正常情况下保持体内自由基的平衡。MDA 和 SOD 可以间接反映心肌细胞损伤程度。本实验结果显示,高脂血症时产生过多的 MDA,而 SOD 活力降低则自由基反应失去平衡,大量 O₂⁻ 损伤心肌组织形成恶性循环,同时利用梯度 PCR 技术得出高脂血症时 M₃受体 mRNA 表达增强,M₂、M₄、M₅受体 mRNA 表达减弱的结果。PCR 反应属于酶促化学反应,酶促反应速度与底物浓度有关,底物浓度增加反应速度随之增加,当底物浓度

3.3 RT-PCR 结果:以总 RNA 为模板分别扩增出 M₂、M₃、M₄、M₅、 β -actin,然后以 β -actin 为内参照调节加样量使其达到亮度(丰度值)一致,再按 β -actin 的加样量加各组 M₂~M₅ 的 PCR 产物,琼脂糖凝胶电泳结果如图 1 所示。从结果看出高脂血症时 M₂、M₄、M₅受体 mRNA 表达减弱,M₃受体 mRNA 表达增强,证明 M₃受体参与了受损心肌的保护作用,给药后 M₂、M₄、M₅受体表达减弱或无变化,M₃受体表达增强,表明高脂血症时大明胶囊的降血脂作用与 M₃受体有关。半定量结果见表 3。

4 讨论

高脂血症,特别是血清 TC 升高是动脉粥样硬化性心血管病的主要危险因素之一。高血脂不仅造成血管壁的病理变化,而且能引起超氧阴离子 O₂⁻ 自由基的增多,大量氧自由基能严重损伤心肌组织^[7],

达到一定程度使酶的活性中心饱和时,增加底物浓度反应速度不再增加,酶促反应进入平台期,而 PCR 反应进入平台期之后不同组织中各蛋白表达均一致。本实验根据这一原理做梯度 PCR,在平台期之前每次增加 3 个循环数,得出随循环数的增加条带亮度依次增加的实验结果,选择最适宜的亮度,以此时的循环数作为最终结果。最后,平台期前每个循环均无任何非特异杂带产生,每个亚型与预扩增碱基数一致,证实了各亚型的特异性,避免了反应进入平台期而造成的各组 mRNA 表达均一致的实验误差。本实验成功扩增出 M₂~M₅ 4 种亚型的 M 受体,打破了传统的认为“只有 M₂受体是支配心脏功

能的唯一受体”的观点,证实 M 受体各亚型共同存在于心肌上调心脏生理功能,尤其是 M₃受体在高脂血症时表达增强,发挥着防御疾病、保护心肌不可或缺的作用。

另一方面高脂血症时产生的大量脂质过氧化物对细胞器和细胞膜以及细胞内酶与核酸都有损害作用,并增加心律失常的发生^[8]。本室建立的抗心律失常最佳靶点假学说^[9]强调 M₃受体在心肌缺血过程中的保护性调节机制及意义,首次提出结扎大鼠冠状动脉前降支导致心肌缺血时 M₃受体激动剂(胆碱)可减轻心肌损伤,阻断剂(4-DAMP)可加重损伤程度^[9]。进一步证明 M₃受体激动剂胆碱可减少 H₂O₂诱导的心肌细胞凋亡数,并可抑制 H₂O₂诱导的[Ca²⁺]_i增多,增加心肌抗凋亡信号分子 Bcl-2、ERK 的表达,减少凋亡前体蛋白 Fas、p38 MAPK 表达,对损伤心肌发挥保护作用^[3,10]。本实验在上述理论基础进一步在 mRNA 水平定量出 M₃受体在高脂血症这一心律失常危险因素时的表达,使 M₃受体在病理状态下的功能研究推进到分子水平。

进一步研究发现中药大明胶囊治疗后,M₃受体数目持续升高,其他亚型 M 受体无变化或减少,血中 MDA 减少,SOD 恢复正常,证明大明胶囊的降血脂作用与 M₃受体有必然的内在联系。可能是通过作用于 M₃受体使血清 MDA 减少,SOD 活力增强,清除体内氧自由基实现的。其分子机制可能与 G 蛋白偶联的信号转导途径有关,具体转导机制有待

进一步的研究证实。

References:

- [1] Diez J, Panizo A, Hernandez M, et al. Cardiomyocyte apoptosis and cardiac angiotensin-converting Enzyme in spontaneously hypertension rats [J]. *Hypertension*, 1997, 30(5): 1029-1034.
- [2] Shi H, Wang H, Wang Z G, et al. Choline modulates cardiac membrane repolarization by activating an M3 muscarinic receptor and its coupled K⁺ channel [J]. *J Membrane Biol*, 1999, 169(10): 55-64.
- [3] Liu Y, Jiang Y H, Sun H L, Li H L, et al. Relationship between M3 receptor and myocyte apoptosis induced by acute myocardial infarction [J]. *Acta Pharm Sin (药科学报)*, 2004, 39(5): 338-341.
- [4] Huo R, Li B X, Jiang H Q, et al. Study on expressions of mRNA of cardiac transient outward potassium channel kv4.2, kv4.3 gene in the hyperlipemic rat [J]. *J Harbin Med Univ (哈尔滨医科大学学报)*, 2005, 39(1): 29-31.
- [5] Xu S Y, Bian R L, Chen X. *Methodology in Pharmacological Experiment (药理实验方法学)* [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2004.
- [6] Krejci A, Stanislav Tucek quantitation of mRNAs for M1 to M5 subtypes of muscarinic receptors in rat heart and brain cortex [J]. *Molecul Pharmacol*, 2001, 61(6): 1267-1272.
- [7] Huang X C, Zhao W H, Wu H, et al. Levels of superoxide viability and malonaldehyde in serums of 84 patients with hyperlipidemia [J]. *J China Coal Indust Med (中国煤炭工业医学杂志)*, 2005, 24 14-17.
- [8] Pan Z W, Wang Z Y, Du Z M, et al. Establishment of a novel arrhythmia model in rats [J]. *Acta Pharm Sin (药科学报)*, 2005, 40(7): 659-662.
- [9] Liu Y, Xu C Q, Jiao J D, et al. M₃-R/IKM₃—A new target of antiarrhythmic agents [J]. *Acta Pharm Sin (药科学报)*, 2005, 40(1): 8-12.
- [10] Liu Y, Sun H L, Wu H, et al. Protective effect of M3 receptor on H₂O₂-induced apoptosis of rat myocardial cells *in vitro* [J]. *Acta Pharm Sin (药科学报)*, 2004, 39(11): 887-891.

表没食子儿茶素没食子酸酯下调紫外线诱导小鼠皮肤 TNF-α mRNA 及 p53 蛋白水平的研究

骆 丹,徐丽贤,缪 旭,林向飞,吉 玺,朱 洁

(南京医科大学第一附属医院 皮肤科,江苏 南京 210029)

摘 要:目的 研究表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)对中波紫外线(UVB)慢性辐射诱导 BALB/c 小鼠皮肤 TNF-α mRNA 表达及 p53 蛋白表达水平的影响。方法 EGCG 局部外用于小鼠背部及耳部皮肤后给予不同强度的 UVB 辐射,每日 1 次,连续 1 个月,RT-PCR 法检测不同处理条件下小鼠背部皮肤组织中 TNF-α mRNA 的表达水平,免疫组化法检测耳部皮肤组织中 p53 蛋白表达水平。结果 经 β-actin 内参校正后,RT-PCR 示不同剂量 UVB 慢性辐射后小鼠皮肤中 TNF-α mRNA 表达水平较对照组升高,但表达水平与 UVB 辐射强度间无明确的剂量依赖关系。UVB 慢性辐射诱导小鼠皮肤 p53 蛋白表达,且表达水平与 UVB 辐射强度间呈剂量依赖关系。EGCG 处理后可下调 UVB 辐射诱导的 TNF-α mRNA 水平及 p53 蛋白表达。结论 UVB 辐射能诱导小鼠皮肤 TNF-α

收稿日期:2006-03-28

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号 30371294)

作者简介:骆 丹(1958—),女,辽宁鞍山人,医学博士,教授,主任医师,研究方向为光损伤及中药的保护作用。

E-mail: daniluo2005@yahoo.com.cn