

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.02.001  
文章编号: 1005-8982(2019)02-0001-07

基础研究·论著

## 氧化苦参碱改善病毒性心肌炎小鼠 心室重构的作用研究\*

王勇胜<sup>1</sup>, 潘银凤<sup>2</sup>, 吕瑞峰<sup>1</sup>, 崔山龙<sup>1</sup>, 陈少宏<sup>3</sup>

(1. 山东省莘县第二人民医院, 山东 莘县 252423; 2. 长春中医药大学, 吉林 长春 130117; 3. 广西中医药大学, 广西 南宁 530200)

**摘要: 目的** 观察氧化苦参碱对病毒性心肌炎所致心力衰竭小鼠心室重构、心肌能量代谢的影响。**方法** 将50只雄性BALB/c小鼠随机分为对照组、模型组(腹腔无菌注射0.1 ml  $1 \times 10^9$  TCID50柯萨奇B3病毒), 以及低、中、高剂量组(在模型组基础上分别皮下注射氧化苦参碱13、26和52 mg/kg)。连续给药14 d后, 采用高频超声心动图检测各组小鼠心功能; HE染色、透射电镜观察左心室肌超微结构; TUNEL法检测各组小鼠左心室肌细胞凋亡情况; ELISA法检测左室心肌细胞游离脂肪酸(FFA)、三磷酸腺苷(ATP)、腺苷酸(AMP)、乳酸(LAC)、I型胶原蛋白(Col I)、III型胶原蛋白(Col III)含量, Western blotting检测各组小鼠左室心肌细胞葡萄糖调节蛋白78(GRP78)、C/EBP环磷酸腺苷反应元件结合转录因子同源蛋白(CHOP)、骨膜蛋白、钙联蛋白的表达。**结果** 模型组较对照组左室舒张末期径扩大, 左室射血分数和左室短轴缩短率减小( $P < 0.05$ ); 左室心肌细胞核排列紊乱、线粒体空泡化、肌丝断裂, 出现大量病毒, 心肌细胞凋亡数量增多( $P < 0.05$ ); FFA、LAC、Col I、Col III、GRP78、CHOP、骨膜蛋白表达升高( $P < 0.05$ ); ATP/AMP比值及钙联蛋白表达降低( $P < 0.05$ )。低、中、高剂量组较模型组左室心肌细胞病理变化及左室重构指标改善( $P < 0.05$ ); FFA、LAC、Col I、Col III、GRP78、CHOP、骨膜蛋白表达降低( $P < 0.05$ ); ATP/AMP比值及钙联蛋白表达升高( $P < 0.05$ )。**结论** 氧化苦参碱可通过保护线粒体, 改善心肌能量代谢, 减少心肌细胞凋亡, 逆转心室重构, 起到改善病毒性心肌炎小鼠心力衰竭的作用。

**关键词:** 心肌炎; 病毒; 心力衰竭; 氧化苦参碱/生物碱类; 小鼠; 心室重构; 能量代谢

中图分类号: R542.21

文献标识码: A

## Effect of Oxymatrine on ventricular remodeling in mice with viral myocarditis\*

Yong-sheng Wang<sup>1</sup>, Yin-feng Pan<sup>2</sup>, Rui-feng Lü<sup>1</sup>, Shan-long Cui<sup>1</sup>, Shao-hong Chen<sup>3</sup>

(1. Shenxian Second People's Hospital, Shenxian, Shandong 252423, China; 2. Changchun University of Chinese Medicine, Changchun, Jilin 130117, China; 3. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, Guangxi 530200, China)

**Abstract: Objective** To observe the effect of Oxymatrine on ventricular remodeling and myocardial energy metabolism in mice with congestive heart failure caused by viral myocarditis. **Methods** Fifty male BALB/c mice were randomly divided into a control group, a model group (intraperitoneal injection of 0.1 ml  $1 \times 10^9$  TCID50 Coxsackie B3 virus), a low-dose group, a medium-dose group and a high-dose group (subcutaneous injection of Oxymatrine 13, 26 and 52 mg/kg into the model mice). After continuous administration for 14 d, cardiac function of each group was detected by high frequency echocardiography; structures and ultrastructures of left ventricular muscle

收稿日期: 2018-07-24

\* 基金项目: 国家自然科学基金(No: 81660794)

[通信作者] 陈少宏, E-mail: wylteam2@163.com

were observed by HE staining and transmission electron microscopy; apoptosis of left ventricular cardiomyocytes was detected by TUNEL method; the levels of free fatty acids (FFA), adenosine triphosphate (ATP), adenosine monophosphate (AMP), lactic acid (LA), type I collagen (Col I) and type III collagen (Col III) in the left ventricular cardiomyocytes were detected by ELISA; Western blot was used to detect the expression of glucose-regulated protein 78 (GRP78) and C/EBP cyclic adenosine monophosphate response element binding transcription factor homologous protein (CHOP), periostin and calnexin in the left ventricular cardiomyocytes of mice. **Results** In the model group, LVEDD was enlarged, LVEF and FS were decreased ( $P < 0.05$ ); the nuclei of the left ventricular cardiomyocytes were disordered, the mitochondria were vacuolated, the myofilaments were broken and the virus appeared, the number of myocardial cells was increased ( $P < 0.05$ ); the expressions of FFA, LA, Col I, Col III, GRP78, CHOP and periostin were increased ( $P < 0.05$ ), the ratio of ATP/AMP and the expression of calnexin were decreased ( $P < 0.05$ ). The pathological changes and left ventricular remodeling indexes of left ventricular cardiomyocytes in the low-dose, medium-dose and high-dose groups were improved ( $P < 0.05$ ), the expressions of FFA, LA, Col I, Col III, GRP78, CHOP and periostin were decreased ( $P < 0.05$ ), the ATP/AMP ratio and calnexin expression were increased ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** Oxymatrine can ameliorate the heart failure in mice with viral myocarditis by protecting mitochondria, improving myocardial energy metabolism, reducing myocardial cell apoptosis and reversing ventricular remodeling.

**Keywords:** myocarditis; virus; heart failure; Oxymatrine/alkaloids; mice; ventricular remodeling; energy metabolism

病毒性心肌炎常见于儿童及青壮年,其引发的心力衰竭(以下简称心衰)是发生不良事件的重要原因之一<sup>[1]</sup>。在心衰的过程中,失衡的心肌细胞能量代谢是其进展的关键因素。骨膜蛋白与钙联蛋白心室重构、心衰后疾病转归关系密切<sup>[2-3]</sup>。目前,氧化苦参碱通过多条信号通路改善心衰患者的心功能,抑制心室重构,已成为研究热点<sup>[4-5]</sup>。本研究采用柯萨奇 B3 病毒(CVB3)感染 BALB/c 小鼠复制病毒性心肌炎心衰模型,观察氧化苦参碱对心衰小鼠心肌能量代谢、心室重构、细胞凋亡的作用,现报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂和仪器

葡萄糖调节蛋白 78 (glucose-regulated protein, GRP78)、C/EBP 环磷酸腺苷反应元件结合转录因子同源蛋白(CHOP)、骨膜蛋白、钙联蛋白、磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)一抗购自美国 Abcam 公司,游离脂肪酸(free fat acid, FFA)、三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)、腺苷酸(adenine nucleotides, AMP)、乳酸(lactic acid, LA)的 ELISA 试剂盒购自瑞士 Roche 公司, I 型胶原蛋白(collagen type I, Col I)、III 型胶原蛋白(collagen type III, Col III)、NP-proBNP 试剂盒购自深圳欣博盛公司。Vivid E9 多普勒彩色超声(美国 GE 公司), JEM-2100 型透射电镜(日

本 JEOL 公司), CVB3 病毒株(吉林大学动物医学院实验动物中心病毒室),病毒原液效价为  $1 \times 10^3$  TCID<sub>50</sub>/L。

### 1.2 动物模型的复制及分组

50 只雄性 SPF 级 BALB/c 新生小鼠由广西中医药大学基础医学院实验动物中心提供。随机分为对照组、模型组,以及低、中、高剂量组,每组 10 只。模型组与氧化苦参碱(低、中、高剂量)组均腹腔注射  $0.1 \text{ ml } 1 \times 10^9$  TCID<sub>50</sub> CVB3 病毒;低、中、高剂量组在模型组基础上皮下注射氧化苦参碱 13、26 和 52 mg/kg<sup>[6]</sup>。从注射病毒起每日记录小鼠的日常及死亡情况。

### 1.3 心脏多普勒超声检查

给药 14 d 后,使用 GE Vivid E9 彩色超声显像仪,对每组小鼠行经胸心脏超声心动图检查。经胸壁高频超声 ML6-15 探头,频率 13 MHz,图像深度 3.5 cm。采用 10% 水合氯醛(0.2 g/kg)腹腔注射麻醉小鼠,在二维超声引导下,用 M 型超声测定左室收缩末期内径(left ventricular end-systolic dimension, LVESd)、左室舒张末期内径(left ventricular end-diastolic dimension, LVEDd)、左室短轴缩短率(fractional shortening, FS)及左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF),测量 4 个连续完整心动周期,计算平均值<sup>[7]</sup>。实验于广西中医药大学基础医学部完成。

### 1.4 病理取材及切片

心脏超声心动图检查后, 采用腹主动脉放血方式处死小鼠, 并在无菌状态下用眼科剪进行病理取材。将心肌样本投入到 4% 多聚甲醛溶液中, 经乙醇脱水、石蜡包埋后, 置于切片机中连续切片。经脱蜡、二甲苯透明后进行 HE 染色, 另取一部分心肌样本投入 4% 戊二醛溶液中, 待浸透样本后行透射电镜检查。

### 1.5 TUNEL 鉴定心肌细胞凋亡

将培养 48 h 的心肌组织经 0.1% Triton X-100 透化后, 漂洗 3 次, 再滴加 3% 双氧水 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 200 μl, 漂洗后加入蛋白酶 K 工作液置于常温下 20 min。漂洗后加入 TUNEL 反应液 (TdT+ 荧光素标记的 dUTP) 37℃ 恒温箱中避光孵育 60 min; 清洗后加入 4', 6-二脒基-2-苯基吡啶, 最后用防荧光淬灭封片剂封片。随机移动组织切片, 选取细胞分布较均匀的高倍视野, 计数 >1 000 个。在相邻的 10 个视野下, 红褐色细胞即阳性细胞。凋亡指数 (AI) = 各视野阳性细胞数 / 视野所有细胞总数 × 100%。

### 1.6 ELISA

采用 ELISA 法检测各组小鼠左室心肌组织 FFA、ATP、AMP、LAC、Col I、Col III 及 NT-proBNP 的表达。于腹主动脉抽取 2 ml 动脉血置于促凝管中, 3 000 r/min 低温离心 10 min, 取上清液进行 NT-proBNP 检测, 严格按照试剂盒说明书进行操作。

### 1.7 Western blotting 检测

采用 Western blotting 检测各组小鼠左心室心肌组织中 GRP78、CHOP、骨膜蛋白、钙联蛋白的表达。提取心室肌组织蛋白并测定浓度, 取样 20 μl 以 10% SDS-PAGE 电泳, 常规转膜后脱脂奶粉封闭, 加一抗 anti-GRP78 (1 : 1 000)、anti-CHOP (1 : 1 000)、anti-骨膜蛋白 (1 : 500)、anti-钙联蛋白 (1 : 800) 4℃

孵育过夜, TBST 洗脱 3 次, 5 min/次。采用辣根过氧化物酶标记二抗室温孵育 2 h, TBST 洗脱 3 次, 10 min/次, 用 ECL 化学发光显像<sup>[8]</sup>。目的蛋白的相对表达量 = 目的蛋白的灰度值 / 内参 GAPDH 的灰度值。

### 1.8 统计学方法

数据分析采用 SPSS 17.0 统计软件。计量资料以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 比较用方差分析, 两两比较用 LSD-*t* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组小鼠心脏超声检查结果

对照组、模型组及低、中、高剂量组小鼠心脏 LVEDd、LVEF 及 FS 比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05)。进一步两两比较经 LSD-*t* 检验, 模型组 LVEDd 较对照组扩大 (*P* < 0.05), LVEF 和 FS 减小 (*P* < 0.05); 低、中、高剂量组小鼠 LVEDd、LVEF 及 FS 较模型组有所改善, 且呈剂量依赖性 (*P* < 0.05)。见表 1 和图 1。

表 1 各组小鼠高频心脏超声数值变化 (*n* = 10,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	LVEDd/mm	LVEF/%	FS/%
高剂量组	3.79 ± 0.38 <sup>1)</sup>	83.49 ± 4.24 <sup>1)</sup>	49.91 ± 4.28 <sup>1)</sup>
中剂量组	4.38 ± 0.43 <sup>2)</sup>	79.52 ± 4.62 <sup>2)</sup>	46.07 ± 4.15 <sup>2)</sup>
低剂量组	4.89 ± 0.18 <sup>3)</sup>	74.75 ± 3.64 <sup>3)</sup>	43.93 ± 3.31 <sup>3)</sup>
模型组	5.27 ± 0.53 <sup>4)</sup>	67.31 ± 5.73 <sup>4)</sup>	38.5 ± 2.13 <sup>4)</sup>
对照组	3.48 ± 0.26	85.52 ± 2.22	49.96 ± 3.5
<i>F</i> 值	16.581	19.360	26.780
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000

注: 1) 与中剂量组比较, *P* < 0.05; 2) 与低剂量组比较, *P* < 0.05; 3) 与模型组比较, *P* < 0.05; 4) 与对照组比较, *P* < 0.05

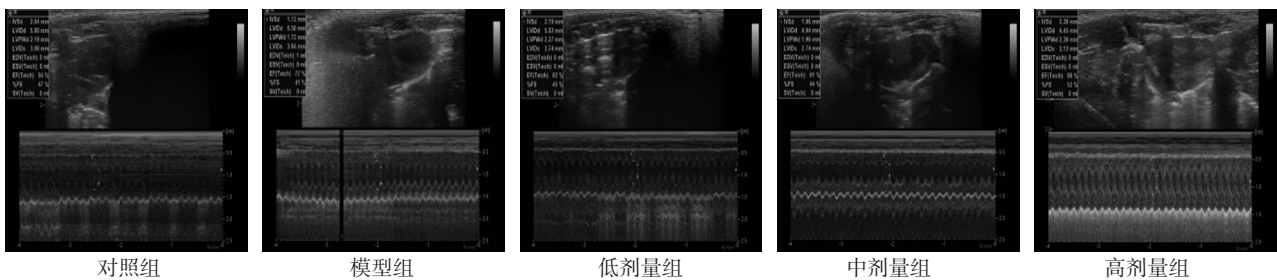


图 1 小鼠心脏超声检查结果

## 2.2 各组小鼠心肌组织 HE 染色结果

模型组心肌纤维间隔较对照组增宽, 细胞核排列紊乱, 可见大量淋巴细胞浸润。高、中、低剂量组小鼠心肌纤维间隔较模型组紧密, 细胞核排列有改善趋势, 且呈剂量依赖性。见图 2。

## 2.3 各组小鼠心肌细胞透射电镜结果

对照组心肌细胞肌纤维整齐, Z 带、M 带明显, 线粒体完整, 且细胞内无病毒迹象。模型组与对照组比较, 心肌细胞出现肌纤维溶解、异常收缩带、线粒体空泡化等现象, 并在细胞质中出现直径 30 ~ 70  $\mu\text{m}$  二十面体病毒, 符合 CVB3 病毒形态。低、中、高剂

量组小鼠心肌细胞肌纤维溶解现象较模型组减轻, 线粒体趋于完整, 病毒数量减少, 且呈剂量依赖性。见图 3。

## 2.4 各组小鼠心肌组织 AI 比较

对照组、模型组, 以及低、中、高剂量组小鼠心肌组织 AI 分别为 (3.26  $\pm$  0.85)、(76.39  $\pm$  5.14)、(39.66  $\pm$  4.87)、(26.42  $\pm$  2.74)、(15.43  $\pm$  1.74)%, 经方差分析, 差异有统计学意义 ( $F=53.786$ ,  $P=0.000$ )。进一步两两比较经 LSD- $t$  检验, 模型组心肌组织 AI 较对照组升高 ( $P<0.05$ ); 低、中、高剂量组 AI 较模型组下降, 且呈剂量依赖性 ( $P<0.05$ )。见图 4。

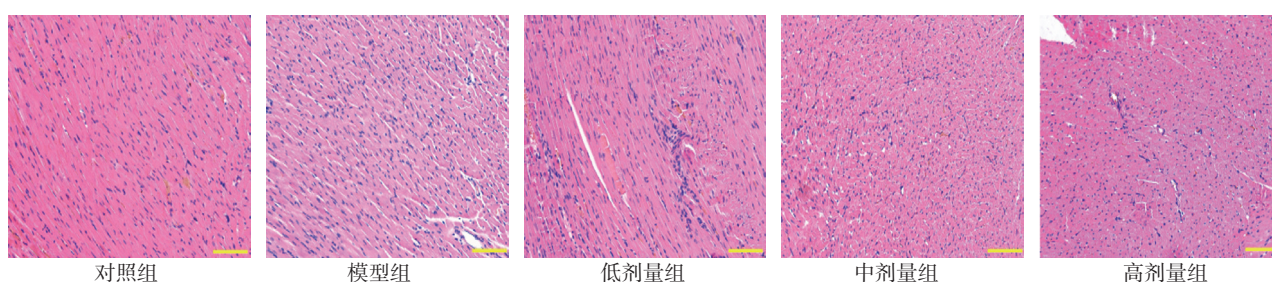


图 2 各组小鼠心肌组织 (HE  $\times$  200)

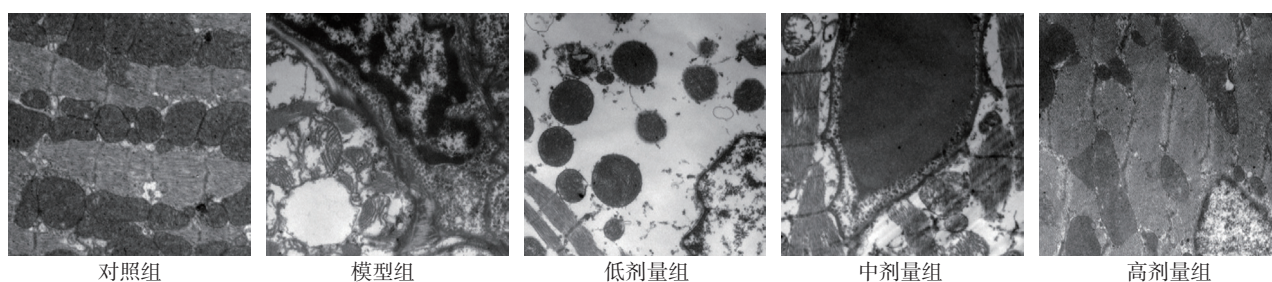


图 3 各组小鼠心肌细胞 (透射电镜  $\times$  3 000)

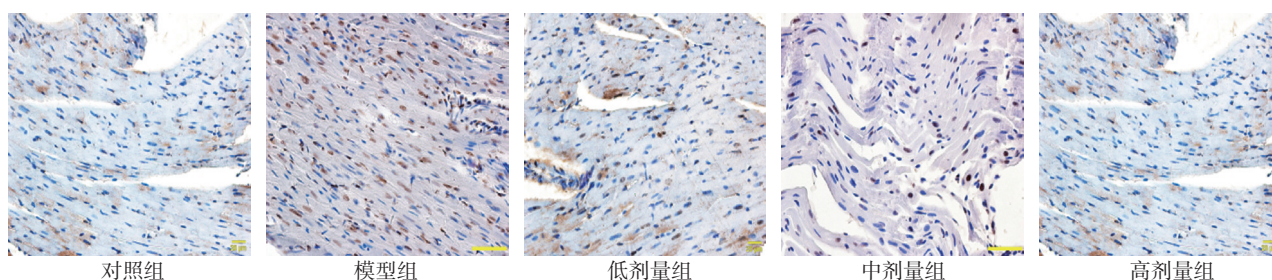


图 4 各组小鼠心肌组织 (TUNEL  $\times$  200)

## 2.5 各组小鼠心肌组织中 FFA、ATP/AMP、LAC、NT-proBNP、Col I 及 Col III 的表达

对照组、模型组, 以及低、中、高剂量组小鼠心肌组织中 FFA、ATP/AMP、LAC、NT-proBNP、Col I 及 Col III 的含量比较, 经方差分析, 差异有统计学意

义 ( $P<0.05$ )。进一步两两比较经 LSD- $t$  检验, 模型组小鼠心肌组织中 FFA、LAC、NT-proBNP、Col I 及 Col III 含量较对照组升高 ( $P<0.05$ ), ATP/AMP 比值降低 ( $P<0.05$ ); 低、中、高剂量组心肌组织中 FFA、LAC、NT-proBNP、Col I 及 Col III 含量较模型组降

低, ATP/AMP 比值升高, 且呈剂量依赖性 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 各组小鼠心肌组织中 FFA、ATP/AMP、LAC、NT-proBNP、Col I 及 Col III 的表达比较 ( $n=10, \bar{x} \pm s$ )

组别	FFA/ (nmol/mg)	ATP/AMP	LAC/ (nmol/mg)	NT-proBNP/ (ng/L)	Col I / (ng/mg)	Col III / (ng/mg)
高剂量组	195.48 ± 13.33 <sup>1)</sup>	8.57 ± 0.69 <sup>1)</sup>	336.87 ± 28.63 <sup>1)</sup>	449.78 ± 42.35 <sup>1)</sup>	81.26 ± 6.33 <sup>1)</sup>	55.11 ± 3.31 <sup>1)</sup>
中剂量组	227.28 ± 11.15 <sup>2)</sup>	6.08 ± 1.03 <sup>2)</sup>	376.39 ± 21.39 <sup>2)</sup>	834.91 ± 57.32 <sup>2)</sup>	90.46 ± 6.28 <sup>2)</sup>	64.56 ± 4.58 <sup>2)</sup>
低剂量组	257.39 ± 8.49 <sup>3)</sup>	4.63 ± 0.36 <sup>3)</sup>	400.58 ± 36.21 <sup>3)</sup>	1 168.36 ± 85.22 <sup>3)</sup>	113.56 ± 4.35 <sup>3)</sup>	73.64 ± 4.36 <sup>3)</sup>
模型组	277.63 ± 15.27 <sup>4)</sup>	2.84 ± 0.69 <sup>4)</sup>	468.94 ± 29.88 <sup>4)</sup>	1 468.69 ± 73.61 <sup>4)</sup>	124.63 ± 9.68 <sup>4)</sup>	79.74 ± 6.61 <sup>4)</sup>
对照组	185.67 ± 8.14	9.37 ± 1.12	316.58 ± 25.37	316.84 ± 35.05	72.94 ± 10.58	45.24 ± 3.38
F 值	53.786	12.674	32.482	73.496	22.64	26.763
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.004	0.006

注: 1) 与中剂量组比较,  $P < 0.05$ ; 2) 与低剂量组比较,  $P < 0.05$ ; 3) 与模型组比较,  $P < 0.05$ ; 4) 与对照组比较,  $P < 0.05$

## 2.6 各组小鼠心肌组织中 GRP78、CHOP、骨膜蛋白及钙联蛋白的表达

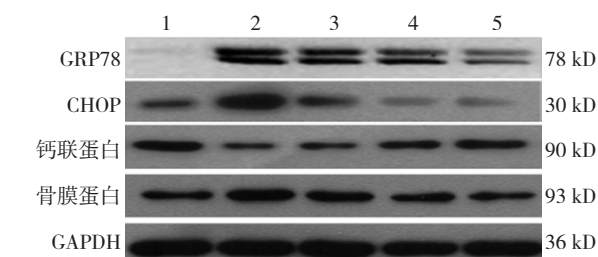
对照组、模型组, 以及低、中、高剂量组小鼠心肌组织中 GRP78、CHOP、骨膜蛋白及钙联蛋白的表达比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。进一步两两比较经 LSD- $t$  检验, 模

型组小鼠心肌组织中 GRP78、CHOP、骨膜蛋白表达较对照组升高 ( $P < 0.05$ ), 钙联蛋白表达下降 ( $P < 0.05$ ); 低、中、高剂量组心肌组织中 GRP78、CHOP、骨膜蛋白表达较模型组降低, 钙联蛋白表达升高, 且呈剂量依赖性 ( $P < 0.05$ )。见表 3 和图 5。

表 3 各组小鼠心肌组织中 GRP78、CHOP、骨膜蛋白及钙联蛋白的表达比较 ( $n=10, \bar{x} \pm s$ )

组别	GRP78	CHOP	骨膜蛋白	钙联蛋白
高剂量组	0.24 ± 0.01 <sup>1)</sup>	0.33 ± 0.02 <sup>1)</sup>	0.21 ± 0.00 <sup>1)</sup>	0.91 ± 0.04 <sup>1)</sup>
中剂量组	0.38 ± 0.02 <sup>2)</sup>	0.39 ± 0.05 <sup>2)</sup>	0.49 ± 0.03 <sup>2)</sup>	0.58 ± 0.04 <sup>2)</sup>
低剂量组	0.64 ± 0.05 <sup>3)</sup>	0.56 ± 0.03 <sup>3)</sup>	0.71 ± 0.05 <sup>3)</sup>	0.31 ± 0.02 <sup>3)</sup>
模型组	0.81 ± 0.06 <sup>4)</sup>	0.84 ± 0.05 <sup>4)</sup>	1.02 ± 0.04 <sup>4)</sup>	0.22 ± 0.03 <sup>4)</sup>
对照组	0.07 ± 0.01	0.36 ± 0.02	0.26 ± 0.02	1.23 ± 0.07
F 值	17.549	18.263	14.322	21.764
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

注: 1) 与中剂量组比较,  $P < 0.05$ ; 2) 与低剂量组比较,  $P < 0.05$ ; 3) 与模型组比较,  $P < 0.05$ ; 4) 与对照组比较,  $P < 0.05$



1: 对照组; 2: 模型组; 3: 低剂量组; 4: 中剂量组; 5: 高剂量组

图 5 各组小鼠心肌组织中 GRP78、CHOP、骨膜蛋白及钙联蛋白的表达

## 3 讨论

氧化苦参碱又叫苦参素, 是中药苦参中的有效成分之一, 具有多重生物效应, 如抗肿瘤、抗血管生成、保护血管内皮、调节免疫等<sup>[8-10]</sup>。大量研究证实, 氧化苦参碱可通过抑制二甲基精氨酸、凋亡相关因子的表达, 减少心肌细胞凋亡, 从而改善心衰大鼠心功能, 抑制心室重构<sup>[4-5]</sup>。但氧化苦参碱对病毒性心肌炎所致心衰的心肌能量代谢的影响未见报道。本研究对 BALB/c 小鼠腹腔无菌注射 CVB3 复制病毒性心肌炎

所致心衰模型,并通过心脏多普勒彩色超声及透射电镜等途径,从宏观和微观角度证实病毒性心肌炎所致心衰模型成立。

本研究发现,小鼠注射 CVB3 病毒 14 d 后,心脏室壁变薄、LVEF 下降、心腔扩大,符合心室重构改变。通过透射电镜观察发现,细胞内出现直径 30 ~ 70 nm 类似二十面体病毒,大量线粒体呈空泡化,说明病毒性心肌炎所致心衰小鼠模型成立,且 CVB3 病毒对线粒体完整性有一定影响。而应用氧化苦参碱后,心脏超声显示心室重构指标明显改善,病毒数量减少,心肌细胞超微观结构有所改变,说明氧化苦参碱可能具有一定的抗病毒作用,减少心肌线粒体的破坏,改善心肌细胞能量供给,从而起到逆转心室重构的作用。这与杨志伟等<sup>[11]</sup>的研究结果有一定相似之处。

本实验进一步观察氧化苦参碱对病毒性心肌炎所致心衰小鼠心肌能量代谢的影响,结果发现,模型组小鼠心肌组织中 FFA、LAC 表达升高,ATP/AMP 比值下降,其中 LAC 是 FFA 与葡萄糖酵解产物,两者在心肌细胞内过度堆积,可导致心肌细胞酸中毒,引发能量代谢紊乱及细胞凋亡<sup>[12-13]</sup>。而氧化苦参碱可使 FFA、LAC 含量下降,ATP/AMP 比值上升,说明氧化苦参碱可能通过抗病毒,改善心肌细胞酸中毒,改善心肌细胞能量代谢,这可能是氧化苦参碱改善心衰的重要因素之一。SHIMAZAKI 等<sup>[14]</sup>研究证实,骨膜蛋白在心肌病理状态下,与胶原纤维的生成关系密切。而国内学者研究发现,骨膜蛋白可与 Col I 直接交联,加速细胞外基质的整合与沉积,从而加速心肌纤维化程度<sup>[15]</sup>。钙联蛋白是 Calnexin/Calreticulin 循环的重要组成部分,具有多重生物学功能,其中调控蛋白折叠、装配及内质网 Ca<sup>2+</sup> 稳态是其主要功能<sup>[16]</sup>。钙联蛋白低表达可使内质网内未折叠与错误折叠积聚过多,激发内质网应激(ERS)凋亡通路。本研究发现,病毒性心肌炎心衰小鼠心室肌组织中 GRP78、CHOP、骨膜蛋白表达升高,钙联蛋白表达下降,而氧化苦参碱可使 GRP78、CHOP、骨膜蛋白表达下降,钙联蛋白表达上升。笔者认为,氧化苦参碱可能抑制心肌纤维化,增加心室肌顺应性,起到逆转心室重构、改善心衰的作用,这一点也通过心室肌 Col I、Col III 结果得到证实。已有研究发现,ERS 所引发的

心肌细胞凋亡存在于病毒性心肌炎小鼠心肌内<sup>[17]</sup>。结合本研究结果分析,氧化苦参碱抑制 ERS 细胞凋亡可能是通过增加钙联蛋白表达,延长钙联蛋白与未折叠蛋白、错误折叠蛋白接触时间,进而缓解 ERS,挽救工作心肌细胞,达到改善心衰的目的。值得注意的是,CVB3 病毒破坏心肌细胞线粒体,导致心肌细胞内供能不足,也可能导致心肌细胞内 Ca<sup>2+</sup> 紊乱及运转能力不足,激发 ERS 所致心肌细胞凋亡,引发心衰,这部分研究笔者将在后续进一步研究中加以论证。

综上所述,氧化苦参碱可能通过保护线粒体完整性、减轻心肌细胞 ERS 所致凋亡等机制,改善 CVB3 所致病毒性心肌炎小鼠心肌能量代谢,逆转心室重构,发挥抗心衰的作用。

#### 参 考 文 献:

- [1] 刘磊,王洪军,辛晴,等.病毒性心肌炎所致小鼠心力衰竭心肌组织内质网应激相关的凋亡关系的研究[J].中国应用生理学杂志,2014,30(5):461-464.
- [2] 张建国,朱锋,牟华明,等.缺血性心力衰竭患者血浆 Periostin 检测的临床意义[J].中国老年学杂志,2013,33(20):5114-5115.
- [3] SMITH J L, MCBRIDE C M, NATARAI P S, et al. Trafficking-deficient hERG K<sup>+</sup> channels linked to long QT syndrome are regulated by a microtubule-dependent quality control compartment in the ER[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2011, 301(1): C75-C85.
- [4] 汪洋,徐烨华,熊爱琴,等.氧化苦参碱抑制异丙肾上腺素诱导大鼠慢性心力衰竭及对 ADMA 代谢通路的影响[J].中国中药杂志,2014,39(3):471-477.
- [5] 陈碧涛,朱荣金,杨红宇,等.氧化苦参碱对病毒性心肌炎小鼠心肌细胞凋亡及相关因子的影响[J].中国现代应用药学,2016,33(3):162-165.
- [6] 张鸣号,王秀玉,何沿虹,等.氧化苦参碱对感染性休克大鼠心肌组织细胞因子的影响[J].中草药,2012,43(11):2242-2246.
- [7] 刘阳,刘念,刘文.氧化苦参碱联合 5-FU 对人胃癌 SGC-7901 细胞生长的协同抑制作用及其机制研究[J].中国免疫学杂志,2016,32(12):1781-1789.
- [8] 王伊林,赵雅君,杨洋,等.磷酸肌酸钠对慢病毒介导 Calumenin 蛋白沉默阿霉素损伤心肌细胞内质网应激信号通路的作用[J].临床心血管病杂志,2015,31(10):1119-1122.
- [9] 桑秀秀,王睿林,韩延忠,等.养护苦参碱通过免疫调节保护刀豆蛋白 A 诱导的小鼠免疫性肝损伤[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(6):125-130.
- [10] 易云,吴琴,黄莉萍,等.氧化苦参碱对高糖毒性下血管内皮细胞的保护作用[J].中国药理学通报,2015,31(4):499-503.
- [11] 杨志伟,周娅,曹秀琴.苦豆子生物碱体外抗柯萨奇 B3 病毒

- 的作用[J]. 四川中医, 2003, 21(3): 14-16.
- [12] 只达石, 黄慧玲, 张国斌, 等. 体温对颅脑创伤患者细胞间液葡萄糖和乳酸的影响[J]. 中国医学科学院学报, 2006, 28(2): 262-266.
- [13] 张东莲, 王洪新, 梁灵君, 等. 人參多糖对腹主动脉缩窄大鼠心肌肥厚及心肌能量代谢的影响[J]. 中国现代应用药学, 2013, 30(6): 571-575.
- [14] SHIMAZAKI M, NAKAMURA K, KII I, et al. Periostin is essential for cardiac healing after acute myocardial infarction[J]. J Exp Med, 2008, 205(2): 295-303.
- [15] 邹平, 吴丹, 吴立玲, 等. AngII 促进成年大鼠心脏成纤维细胞 Periostin 表达的信号通路研究[J]. 现代预防医学, 2011, 38(16): 3265-3272.
- [16] 张峰. 内质网分子伴侣 Calnexin 的研究进展[J]. 生物学通报, 2008, 43(8): 7-10.
- [17] ZHOU X M, XIN Q, WANG Y, et al. Total flavonoids of astragalus play a cardioprotective role in viral myocarditis[J]. Acta Cardiol Sin, 2016, 32(1): 81-88.

(童颖丹 编辑)