

亡指数呈负相关。

本实验表明,慢性浅表性胃炎不同证型大鼠根据其证的不同凋亡指数亦不同,其中脾虚 CSG 组凋亡指数高于湿热 CSG 组。另凋亡过程的发生与 Bcl-2 的表达有密切的关系。

参 考 文 献

- [1] 谢淑颖,周晓虹. 慢性胃炎的中医常见证型研究[J]. 辽宁中医药大学学报,2009,11(4):53-54.
- [2] 高碧珍,兰启防,李灿东,等. 慢性胃炎证候与幽门螺杆菌及 Bcl-2 蛋白的相关性研究. 福建中医学院学报. 2003,12,13(6):1-3.
- [3] 翁一洁,郑学宝. 大鼠内因湿热造模方法研究[J]. 时珍国医国药,2010,21(2):479-480.
- [4] 王利芳,乔樵,朱曙东. 云香复合胃痛胶囊对慢性浅表性胃炎大鼠胃分泌功能的影响[J]. 中国中西医结合消化杂志,2008,16(6):372-374.
- [5] 宋雅芳,王汝俊,刘友章,等. 健脾益气中药对脾虚大鼠肝组织线粒体功能的影响[J]. 中药新药与临床药理,2009,20(5):423-426.
- [6] 彭黎明,王曾礼. 细胞凋亡的基础与临床[M]. 北京:人民卫生出版社,2000:412-414.

(收稿日期:2013-04-08)

(本文编辑:黄凡)

青蒿酯对房颤大鼠心肌核转录因子- κ B 表达的干预作用

焦华琛 张蕴慧 李运伦

【摘要】 目的 通过建立房颤大鼠模型,观察核转录因子- κ B(nuclear factor kappa B, NF- κ B) mRNA 的表达水平以及青蒿提取物对其表达的影响。**方法** 40 只大鼠按随机数字表法分为空白对照组、模型组、青蒿组、卡托普利组,每组 10 只。利用舌下静脉注射乙酯胆碱和氯化钙的方法建立房颤大鼠模型,使用青蒿提取物进行干预,以卡托普利作为对照药。实验前 2 周青蒿组以 1.25 g 生药·kg⁻¹灌胃,卡托普利组以 3.25 mg·kg⁻¹灌胃,对照组及模型组均以等体积生理盐水灌胃。通过 PCR 以及 Western-blot 技术观察 NF- κ B mRNA 表达以及 NF- κ B 蛋白表达。**结果** 与对照组相比,模型组大鼠心肌 NF- κ B mRNA 的表达显著增加($P < 0.05$)。青蒿组能明显减少房颤大鼠心肌 NF- κ B mRNA 的表达($P < 0.05$),卡托普利对 NF- κ B mRNA 的表达无影响。NF- κ B 蛋白的表达与 mRNA 的表达呈一致规律。**结论** NF- κ B 与房颤的发生关系密切。房颤大鼠 NF- κ B 的表达明显增加。青蒿提取物能够有效地减少房颤大鼠心肌 NF- κ B 的表达,这可能是青蒿抗心律失常的机制之一。

【关键词】 房颤; 核转录因子- κ B; 青蒿

【中图分类号】 R256.1 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2013.06.002

The atrial fibrillation rat myocardial expression of NF- κ B and Artemisia annua extracts intervention role JIAO Hua-chen, ZHANG Yun-hui, LI Yun-lun. Heart disease department, Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji Nan 250011, China

Corresponding author: JIAO Hua-chen, E-mail: liyixuan0531@163.com

【Abstract】 Objective Through the establishment of a rat model of atrial fibrillation, observed the expression of NF- κ B mRNA expression levels, and affect Artemisia annua extract has on it. **Methods** Establish a rat model of atrial fibrillation, the use of Artemisia annua extract intervention to captopril as controls. NF- κ B mRNA expression and protein expression were observed by PCR and Western-blot. **Results** Compared with the control group, model group rat cardiac NF- κ B mRNA expression was significant-

基金项目:山东省中青年科学家奖励基金(2010BSA01005)

作者单位:250011 济南,山东中医药大学附属医院心病科(焦华琛、张蕴慧、李运伦)

作者简介:焦华琛(1977-),女,博士,主治医师。研究方向:中医药治疗心律失常的基础和临床研究。E-mail: liyixuan0531@163.com

ly increased ($P < 0.05$). The *Artemisia annua* group could significantly reduce the atrial fibrillation rat myocardial NF- κ B mRNA expression ($P < 0.05$). Captopril has no effect on the expression of NF- κ B mRNA. NF- κ B protein expression and mRNA expression was consistent with the law. **Conclusion** NF- κ B are closely related to the incidence of atrial fibrillation. Atrial fibrillation rat NF- κ B expression was significantly increased. Artemisinin extract can effectively reduce fibrillation Myocardial of NF- κ B expression, which may be one of artemisinin antiarrhythmic mechanism.

【Key words】 Atrial fibrillation; NF- κ B; *Artemisia annua*

核转录因子- κ B (nuclear factor kappa B, NF- κ B) 是一种多效可诱导的转录因子,除了能够调节多种基因的表达、产生细胞因子,还能调节多种炎症因子的表达和细胞凋亡。NF- κ B 对免疫应答、炎症反应、细胞分化和生长、细胞粘附和细胞凋亡所必需的多种细胞因子、粘附因子具有调节作用。前期多项研究表明:炎症因子 NF- κ B 在心血管疾病的发生过程中具有重要的意义。同时,NF- κ B 在肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor, TNF- α) 的产生中也起重要作用。为观察 NF- κ B 与房颤发生的关系,笔者进行了以下实验:

1 材料与方法

1.1 动物及试剂

SD 大鼠 40 只,体重 (250 ± 20) g 左右,由山东大学实验动物中心提供,合格证号 3CX1 (鲁) 2009001。卡托普利由广州白云山制药厂生产,批号 110754。青蒿酯由西安小草植物科技有限责任公司生产,批号 SC101213。戊巴比妥钠由上海华蓝化学科技有限公司进口分装,批号 57330。RIPA 裂解液由碧云天生物技术有限公司提供,批号 P0013B。Trizol 试剂盒由生工生物工程(上海)有限公司生产,批号 1102111W。

1.2 动物模型建立及分组

SD 大鼠按数字随机表法分为空白对照组 10 只,模型组 10 只、青蒿酯组 10 只、卡托普利组 10 只,采用氯化钙、乙酰胆碱混合液以舌下静脉给药的方式建立房颤动物模型。用 1% 的戊巴比妥钠进行腹腔注射麻醉,先描记大鼠正常心电图。舌下静脉注射氯化钙、乙酰胆碱混合液 $1 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,描记心电图,待出现典型房颤 f 波。模型组、青蒿酯组、卡托普利组的 30 只大鼠均按此方法每日给药,常规喂养,连续给药 4 周,停药后心电图仍有典型房颤改变为造模成功。3 组各有 9 只大鼠造模成功。实验前 2 周青蒿酯组以 1.25 g 生药/kg 灌胃。卡托普利组以 3.25 mg/kg 灌胃。空白对照组实验结束时为

9 只。

1.3 PCR 引物设计^[2]

选用肌动蛋白- β (β -actin) 作为内参照。Trizol 法提取总 RNA。紫外分光光度计测定 RNA 纯度及含量。引物序列如下: NF- κ B: 正向 5'-TCT-GAGACTCCGTGAAA-3', 反向 5'-CAGACTGACTT-TATGGGAAC-3'。52℃ 退火,循环 30 次,扩增片段 285 bp。 β -actin: 5'-GCTGTCCCTGTACGCCTCTG-3', 反向 5'-GCTTCTCCTTGATGTCCCGC-3'。59℃ 退火,循环 30 次,扩增片段 230 bp。用分光光度计测定吸光度,换算成 mRNA 浓度。

1.4 Western-blot 法检测 NF- κ B 表达

实验当日处死动物,取左心房组织^[1],制成匀浆,使用 RIPA 裂解液,再加入 100 mg/L 蛋白酶抑制剂提取组织蛋白,并测定蛋白浓度。制作 12% 的分离胶和 5% 的积层胶,电泳结束后,将蛋白转移至聚偏氟乙烯(PVDF)膜,5% 脱脂奶粉溶液室温封闭 3 小时,加入一抗,4℃ 孵育过夜,TBS-T 溶液洗膜 4 次,每次 15 分钟。室温下加二抗孵育 2 小时,洗膜 4 次,用增强化学发光法显色,凝胶成像分析系统摄像分析并得出灰度值。

1.5 统计学分析

使用 SPSS 16.0 统计软件进行统计处理。NF- κ B 表达以灰度值统计,NF- κ B mRNA 表达计量资料以表示,两组间比较采用 t 检验,组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 房颤大鼠心肌 NF- κ B mRNA 表达结果显示: 模型组与对照组采用 t 检验进行分析,在 NF- κ B mRNA 表达方面相比 $P < 0.05$ ($P = 0.024$),证明房颤大鼠心肌中 NF- κ B mRNA 的表达较正常大鼠明显增加。青蒿酯组与模型组采用 t 检验分析,两组相比 $P < 0.05$ ($P = 0.018$),说明青蒿提取物可明显降低炎症因子 NF- κ B mRNA 的表达,卡托普利与模型组采用 t 检验分析,两组相比 $P > 0.05$ ($P =$

0.061), 即说明卡托普利对该因子的表达没有影响。

表 1 各组大鼠心肌 NF-κB mRNA 的表达 ($\bar{x} \pm s$)

	模型组	对照组	青蒿组	卡托普利组
NF-κB	0.92 ± 0.08 ^a	0.23 ± 0.10	0.36 ± 0.08 ^b	0.91 ± 0.07 ^c

注:与对照组相比,^a $P < 0.05$;与模型组相比^b $P < 0.05$;与模型组相比^c $P > 0.05$

2.2 Western-blot 法检测房颤大鼠心肌 NF-κB 表达

正常情况下,大鼠心肌中有一定 NF-κB 表达,在本实验中,对照组 NF-κB 表达的灰度值是最低的,青蒿酯组次之,模型组最高。灰度值越低,蛋白表达的水平越高。因此可以得出结论:房颤发生后,心肌 NF-κB 的表达明显增强。四组间经单因素方差分析,证明青蒿酯能够有效降低炎症因子 NF-κB 的表达 ($P = 0.034, P < 0.05$),而卡托普利对 NF-κB 没有影响 ($P = 0.067, P > 0.05$)。蛋白表达及灰度值直方图见图 1、2。

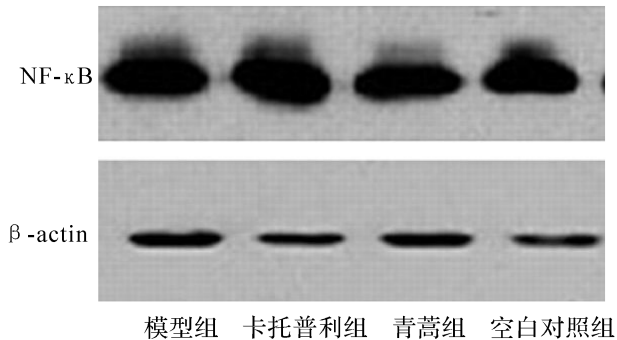


图 1 房颤大鼠心肌细胞 NF-κB 蛋白的表达

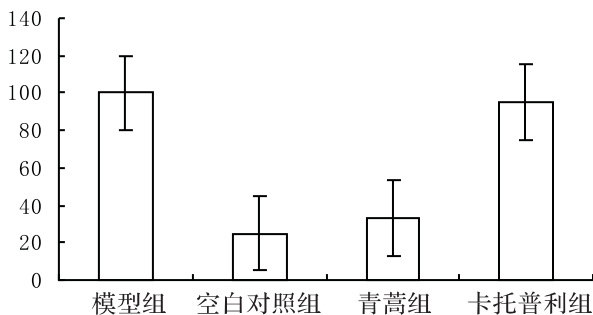


图 2 房颤大鼠心肌细胞 NF-κB 表达灰度值统计结果 ($n = 9$)

3 讨论

NF-κB 与动脉粥样硬化、心衰、缺血再灌注等心血管疾病有密切的联系。NF-κB 是一种重要的基因

转录调节分子,它可与多种蛋白质基因启动子或增强子的 κB 序列特异结合,诱导基因表达增强。NF-κB 是由 p50 和 p65 两个蛋白亚基组成,是炎症反应的中枢调节物^[3]。NF-κB 激活通路广泛存在于内皮细胞、平滑肌细胞及心肌细胞中。NF-κB 是 1986 年从 B 淋巴细胞核中检测到的一种核蛋白因子,它能与免疫球蛋白 κ 的轻链基因增强子 κB 序列特异性地结合,故称为 NF-κB^[4]。

NF-κB 是 TGF-β 的上游调控因子。活化的 NF-κB 进入细胞核后能够促进靶基因转录,可高效诱导多种成分的表达:(1)细胞因子,如 TGF-β、IL-6 等;(2)黏附分子,如 ICAM-1、VCAM-1 等;(3)趋化因子;(4)急性反应蛋白;(5)调控炎症反应放大与延续的酶^[5]。

NF-κB 与心律失常关系密切。前期研究已经发现,房颤大鼠心肌 TNF-α 的表达是上调的,青蒿酯与卡托普利均能减低 TNF-α 的表达。NF-κB 是 TNF-α 的上游调节因子。本研究在既往研究的基础上以青蒿酯作为研究对象,观察青蒿酯对房颤大鼠心肌中 NF-κB 表达的干预作用。

本研究发现:正常大鼠心肌中有少量 NF-κB 表达,房颤发生后,心肌 NF-κB mRNA 的表达明显增强。青蒿酯能够有效降低炎症因子 NF-κB mRNA 的表达 ($P < 0.05$),而卡托普利对 NF-κB mRNA 没有影响 ($P > 0.05$)。Westing-blot 法的结果证明这证明青蒿提取物降低 TNF-α 是通过干预 NF-κB 表达实现的,而卡托普利并非通过这一途径实现的。

参 考 文 献

- [1] 姜楠,梁晓春,屈岭,等. 筋脉通胶囊对糖尿病大鼠坐骨神经形态测量学及核转录因子 κB 蛋白表达的影响[J]. 环球中医药,2012,5(2):100-104.
- [2] 赵凯,钱月慧,程晓东. TNF-α、NF-κB 在动脉粥样硬化闭塞症兔动脉中的表达变化[J]. 宁夏医科大学学报,2012,34(1):14-16.
- [3] 陈志成,陈国忠,吴晓智,等. 上胸段硬膜外阻滞对蛛网膜下隙出血兔基底动脉 NF-κB 和 COX-2 表达的影响[J]. 医学综述,2012,18(14):2279-2282.
- [4] 李恩,刘宗芳,孙利强,等. CT-1、NF-κB 在心肌梗死大鼠心室重塑中的表达及罗格列酮的作用[J]. 西安交通大学学报(医学版),2011,32(1):54-56,92.
- [5] Siebenlist U, Franzoso G, Brown K, et al. Structure, regulation and function of NF-κB[J]. Annu Rev Cell Biol, 1994, 10: 405-455.

(收稿日期:2013-03-21)

(本文编辑:黄凡)