

- 用药经验[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2012;13(11):944-5.
- 11 蒋松, 刘志红. 糖尿病肾病的防治:任重而道远[J]. 中国实用内科杂志, 2017;37(3):185-8.
- 12 王琳琳, 冯佳莉, 刘俊芬, 等. 丹参多酚酸盐在糖尿病肾病治疗中的临床研究[J]. 中国医院药学杂志, 2018;38(6):654-61.
- 13 Miranda-Díaz AG, Pazarín-Villaseñor L, Yanowsky-Escatell FG, et al. Oxidative stress in diabetic nephropathy with early chronic kidney disease[J]. J Diabetes Res, 2016;2016:7047238.
- 14 Qiu YY, Tang LQ, Wei W. Berberine exerts renoprotective effects by regulating the AGEs-RAGE signaling pathway in mesangial cells during diabetic nephropathy [J]. Mol Cell Endocrinol, 2017; 443: 89-105.
- 15 Chiu J, Khan ZA, Farhangkhoe H, et al. Curcumin prevents diabetes-associated abnormalities in the kidneys by inhibiting p300 and nuclear factor-kappa B[J]. Nutrit, 2009;25(9):964-72.
- 16 Lupachyk S, Watcho P, Stavnichuk R, et al. Endoplasmic reticulum stress plays a key role in the pathogenesis of diabetic peripheral neuropathy[J]. Diabetes, 2013;62(3):944-52.
- 17 Li J, Lee AS. Stress induction of GRP78/BiP and its role in cancer [J]. Current Mol Med, 2006;6(1):45-54.
- 18 Oyadomari S, Mori M. Roles of CHOP/GADD153 in endoplasmic reticulum stress[J]. Cell Death Differ, 2004;11(4):381-9.
- 19 McCullough KD, Martindale JL, Klotz LO, et al. Gadd153 sensitizes cells to endoplasmic reticulum stress by down-regulating Bcl2 and perturbing the cellular redox state[J]. Mol Cell Biol, 2001;21(4):1249-59.
- 20 Tamaki T, Kamatsuka K, Sato T, et al. A novel transmembrane protein defines the endoplasmic reticulum stress-induced cell death pathway [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017; 486 (1): 149-55.
- 21 Ju Y, Su Y, Chen Q, et al. Protective effects of astragaloside IV on endoplasmic reticulum stress-induced renal tubular epithelial cells apoptosis in type 2 diabetic nephropathy rats[J]. Biomed Pharmacother, 2019;109:84-92.
- 22 鞠营辉. 黄芪甲苷对 2 型糖尿病肾病大鼠内质网应激诱导的肾小管上皮细胞凋亡的抑制作用[D]. 合肥:安徽医科大学, 2019.

〔2022-04-22 修回〕

(编辑 高畅)

不同浓度人参总皂苷对慢性阻塞性肺疾病大鼠肺组织细胞凋亡、免疫球蛋白及 LCN2/AQP4 蛋白的影响

郭成龙¹ 唐蕊² 鲁翠芳³ 李志农¹ 项静¹ 贾齐¹

(1 唐山市第九医院, 河北 唐山 063000; 2 唐山市工人医院; 3 唐山市中心医院)

[摘要] 目的 探究不同浓度人参总皂苷对慢性阻塞性肺疾病(慢阻肺)大鼠肺组织细胞凋亡、免疫球蛋白及脂质运载蛋白(LCN)2/水通道蛋白(AQP)4 的影响。方法 选取 60 只 SPF 级 SD 雄性大鼠,随机分为正常组(A 组:健康大鼠),模型组(B 组:慢阻肺模型大鼠),二陈汤加味组(C 组:模型大鼠给予二陈汤干预),低浓度人参总皂苷组(D1 组:模型大鼠给予低浓度人参总皂苷干预),中浓度人参总皂苷组(D2 组:模型大鼠给予中浓度人参总皂苷干预),高浓度人参总皂苷组(D3 组:模型大鼠给予高浓度人参总皂苷干预),每组 10 只,干湿重法测定肺体脂质(LBF)、肺含水量(LWC),苏木素-伊红(HE)染色法检测肺组织病理形态;流式细胞仪检测肺组织细胞凋亡;酶联免疫吸附试验(ELISA)检测大鼠血清中免疫球蛋白(Ig)G、IgA、IgM 水平;Western 印迹检测肺组织中 LCN2、AQP4 蛋白表达。结果 B 组与 A 组比较,LBF、LWC 含量、细胞凋亡率、LCN2 显著升高($P<0.05$),与 B 组比较,C、D1、D2、D3 组的含量明显降低($P<0.05$),且人参总皂苷各剂量组呈剂量依赖趋势,而 C 组与 D1 组相比无明显差异($P>0.05$);A 组肺组织结构、肺泡正常完整,间质均匀且无充血,而 B 组可见明显水肿出血,肺间质明显增厚,且有大量炎细胞浸润,与 B 组比较,C、D1、D2、D3 组出血症状明显减少,部分肺间质和肺泡的组织结构趋向正常,炎细胞浸润现象明显改善,且人参总皂苷剂量越高,改善越明显;与 A 组相比,B 组的 IgG、IgA、IgM、AQP4 的含量显著降低($P<0.05$),与 B 组相比 C、D1、D2、D3 组的 IgG、IgA、IgM、AQP4 含量明显升高($P<0.05$)。结论 人参总皂苷可以有效抑制慢阻肺大鼠肺细胞凋亡,提高免疫球蛋白表达水平,对肺组织具有保护作用,且呈现浓度依赖性,其作用机制可能与调控 LCN2/AQP4 蛋白表达有关。

[关键词] 人参总皂苷;慢性阻塞性肺疾病;细胞凋亡;免疫球蛋白;脂质运载蛋白(LCN)2;水通道蛋白(AQP)4

[中图分类号] R563 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9202(2023)11-2765-06;doi:10.3969/j.issn.1005-9202.2023.11.055

慢性阻塞性肺疾病(慢阻肺)是一种不可逆的气流受限,并伴随肺部对有害气体、颗粒有异常炎症

基金项目:唐山市卫生健康委员会科研项目(20201463)

第一作者:郭成龙(1987-),男,主治医师,硕士,主要从事内科学疾病研究。

反应的肺部疾病^[1]。目前慢阻肺的确切病因尚不明确,其可能与肺内炎症反应、蛋白酶失衡、氧化应激等有关^[2]。对于慢阻肺,大部分学者认为其是一种长期消耗性疾病,患者在临幊上均会出现免疫功能异常,因此抑制气道炎症及氧化应激,改善免疫功

能,在预防急性发作上尤为重要^[3]。慢阻肺在临幊上多用抗菌药物治疗,但抗菌药物持续使用会使机体免疫力大幅度下降,极易形成肺部感染^[4]。有研究表明,中药治疗对于慢阻肺具有很好的效果,其优势在于多途径、多靶点、可靠且安全性高,因此越来越受到广大研究人員的重视^[5]。人参是我国的中草药之王,历来为中医药学者所关注。在人参的有效成分中,人参总皂苷在增强免疫功能、抗氧化应激、抗菌消炎等方面都发挥着重要作用,且不良反应较少,因此被广泛应用于临床治疗中^[6]。肺损伤在慢阻肺中极为常见,其主要是由于炎性介质等所引起的肺组织细胞凋亡^[7]。因此,近年来如何抗细胞凋亡已经成为国内外医学专家研究的热点之一^[8]。免疫球蛋白是一类重要的免疫效应分子,其主要机制是与抗原特异性结合,从而起到抗病毒、杀菌消炎、激活补体等作用^[9]。脂质运载蛋白(LCN)2与呼吸道炎症及肺部感染等方面有着密不可分的关系,其可有效抑制细菌生长,发挥免疫作用^[10]。水通道蛋白(AQP)4在增加细胞膜水通透力上有着重要作用,其可为液体提供快速转运的途径,维持机体的体液平衡^[11]。因此,本文就不同浓度人参总皂苷对慢阻肺大鼠肺组织细胞凋亡、免疫球蛋白及LCN2/AQP4蛋白的影响进行研究,为临幊上治疗慢阻肺提供参考。

1 材料与方法

1.1 动物材料 选取斯贝福(北京)生物技术有限公司提供的 60 只 SPF 级 SD 雄性大鼠,体质量 150~200 g,室温生长,模仿昼夜交替,昼夜各 12 h,在常温下进行无菌饮食 2 w,按照《实验动物管理条例》规定进行实验。

1.2 仪器 超净工作台(AIR TECH,苏州医疗设备厂);香烟发生器(RC-200,上海玉研科学仪器有限公司);全波长酶标仪(HBS-ScanX,南京德铁实验设备有限公司);PowerPac™基础电泳仪(164-5051,美国 Bio-Rad 公司);高速冷冻离心机(5024R,德国 Eppendorf 公司);光学显微镜(CX-60,日本 OLYMPUS 公司);电子分析天平(FA2004N,上海青海仪器有限公司)电热恒温鼓风干燥箱(DHG-9075AD,上海齐欣科学仪器有限公司);自动包埋机(EG1150,德国 Leica 公司);全自动轮转切片机(RM2265,德国 Leica 公司)。

1.3 药物与试剂 人参总皂苷(批号 5997,上海源叶生物科技有限公司),阿托伐他汀(批号 134523-00-5,上海彩佑实业有限公司),脂多糖(批号

L16970,北京凯瑞基生物科技有限公司),泰山香烟(焦油量 15 mg,山东中烟工业有限责任公司),酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(批号 446502,美国 R&D 公司),苏木素染液(批号 H9627,美国 Sigma 公司),全蛋白抽提试剂盒(批号 KGP250,江苏凯基生物科技发展有限公司),十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)试剂盒(批号 KGP113,江苏凯基生物科技发展有限公司),电化学发光(ECL)检测试剂盒(批号 KGP1123,江苏凯基生物科技发展有限公司),免疫球蛋白(Ig)M 抗体(批号 68045-R118-B,北京义翘神州科技股份有限公司),IgA 抗体(批号 LM-10491R-FITC,上海联迈生物工程有限公司),IgG 抗体(批号 R31798,上海坼明生物科技有限公司),LCN2 抗体(批号 PAB7431,上海科敏生物科技有限公司),AQP4 抗体(批号 ATA24815,武汉益普生物科技有限公司),RIPA 裂解液(批号 20160928,北京索莱宝科技有限公司),生理盐水(批号 YT3740,北京伊塔生物科技有限公司),多聚甲醛(批号 158127,Sigma-Aldrich LLC. 公司),5% 脱脂奶粉[牛血清白蛋白(BSA)](批号 YX-DK00367,浙江羽翔生物科技有限公司)。

1.4 分组与模型制备 大鼠随机分为正常(A)组,模型(B)组,二陈汤加味(C)组,低浓度人参总皂苷(D1)组,中浓度人参总皂苷(D2)组,高浓度人参总皂苷(D3)组,每组 10 只。B、C、D1、D2、D3 组进行慢阻肺建模,用香烟发生器对大鼠持续烟熏 30 d,每天 8 支,然后从给予大鼠腹腔注射 10 mg/kg 的脂多糖,观察大鼠行为活动,若给药后 6 h 大鼠出现明显咳嗽,呼吸困难、胸闷气短等症状,说明建模成功,A 组同期给予同体积生理盐水。建模成功后,C 组灌胃 10 g/kg 的二陈汤加味,对 D1、D2、D3 组分别从腹腔注射 20、40、60 mg/kg 的人参总皂苷,每天 1 次连续给药 30 d,A 组、B 组灌胃同体积生理盐水。

1.5 相关指标检测 (1)标本采集:末次给药后将大鼠处死并称重,从肺部取血,然后取双肺,肺血在 4℃、2 000 r/min 条件下离心 10 min,取上清液于无菌离心管中,在冰箱中密封保存,双肺用电子天平进行称重以计算肺体脂数(LBF),取大鼠右肺用干净滤纸沾干右肺表面水分并称重,在 70℃ 的烘箱内烘干 72 h 并称重,用干湿重法测定肺含水量(LWC)。将剩余肺组织用 4% 的多聚甲醛溶液固定 96 h 后,用生理盐水漂洗干净,放入冰箱中密封保存。(2)肺组织结构的病理变化采用苏木素-伊红(HE)染色法进行观察,取左肺组织进行常规石蜡包埋、切片,用苏木素染液进行染色,中性树胶封片后,用光学显

微镜进行组织病理学观察。(3)肺细胞凋亡实验:采用末端脱氧核苷酸标记法(TUNEL)检测,取部分肺组织与蛋白酶K进行室温孵育,切片浸入TUNEL反应液中,取出磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗3次,过氧化氢冲洗淬灭酶活性后,联合抗生素蛋白过氧化氢酶和二氨基联苯胺覆盖,光学高倍显微镜下进行观察凋亡细胞核呈现棕黄色,随机选择5个视野下的细胞观察凋亡率。凋亡率:凋亡细胞数/总细胞数×100%。(4)血清中 IgG、IgA、IgM 含量检测:采用 ELISA 检测,实验步骤需严格按试剂盒说明书进行,实验完成后,立即用酶标仪在波长 450 nm 处,测定每孔吸光度,通过标准曲线,计算血清中 IgG、IgA、IgM 含量。(5)蛋白表达检测:Western 印迹法检测大鼠肺组织中 LCN2、AQP4 的蛋白表达。取左肺组织剪碎置于离心管中,加入 1 ml RIPA 裂解液并充分搅拌,4℃下 10 000 r/min 离心 10 min 后取上清液,用二喹啉甲酸(BCA)法测定,并将各组蛋白调至等浓度后,用 SDS-PAGE 试剂盒进行电泳,其步骤为浓缩胶 80 V 30 min,分离胶 120 V 1 h,然后将凝胶上蛋白用半干法转移至甲醇活化的聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上,在 120 V 条件下转膜 1.5 h 后,在 7℃ 下 5% BSA 封闭 2 h;按说明书用封闭液稀释一抗(1:1 000),加入稀释的 LCN2、AQP4 一抗,4℃ 摆床振荡孵育过夜后洗膜;加入稀释的二抗(1:5 000),37℃ 轻摇室温孵育 2 h;洗膜后,用 ECL 荧光试剂盒测定结果,计算比值求得 LCN2、AQP4 蛋白的相对表达含量。

1.6 统计学分析 采用 SPSS23.0 软件进行 *t* 检验、 χ^2 检验、SNK-q 检验。

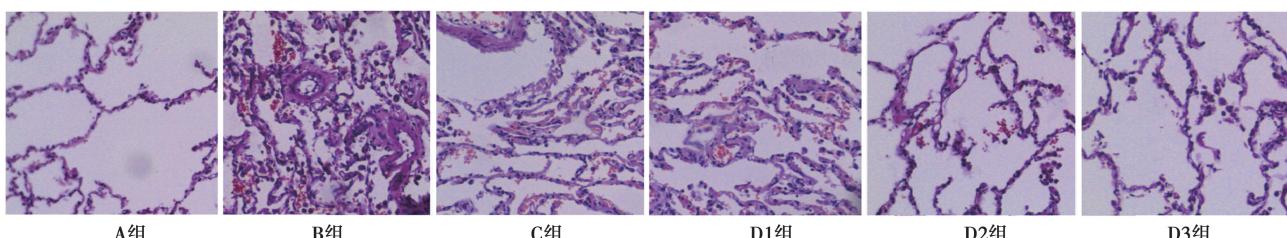


图 1 各组肺组织结构 HE 染色($\times 200$)

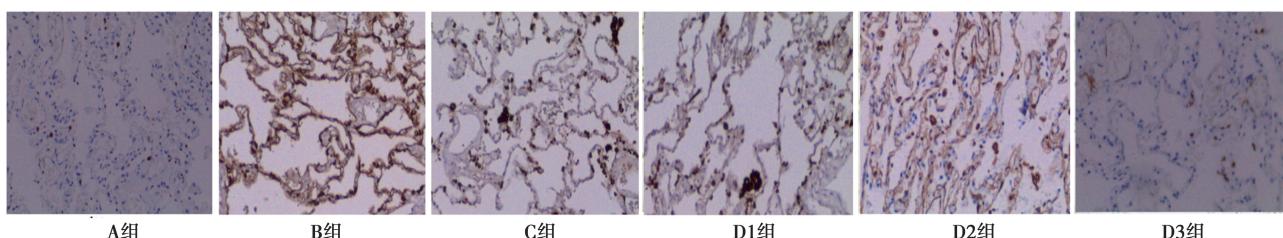


图 2 TUNEL 检测各组细胞凋亡($\times 200$)

2 结 果

2.1 各组 LBF 及 LWC 含量 与 A 组比较,B 组的 LBF、LWC 含量显著升高($P<0.05$),与 B 组比较,C、D1、D2、D3 组含量明显降低($P<0.05$),且人参总皂苷各剂量组呈剂量依赖趋势,而 C 组与 D1 组相比无明显差异($P>0.05$),见表 1。

表 1 各组 LBF 及 LWC 含量比较($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	LBF	LWC (%)
A 组	0.75±0.04	72.35±1.95
B 组	0.95±0.03 ¹⁾	91.25±2.46 ¹⁾
C 组	0.88±0.02 ¹⁾²⁾	86.59±2.04 ¹⁾²⁾
D1 组	0.87±0.03 ¹⁾²⁾	85.36±2.05 ¹⁾²⁾
D2 组	0.80±0.03 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	80.35±2.05 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾
D3 组	0.75±0.02 ²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾	75.44±2.08 ²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾
F/P 值	21.91/<0.001	32.98/<0.001

与 A 组相比:1) $P<0.05$;与 B 组相比:2) $P<0.05$;与 C 组比较:3) $P<0.05$;与 D1 组相比:4) $P<0.05$;与 D2 相比:5) $P<0.05$;下表同

2.2 各组肺组织 HE 染色结果 A 组肺组织结构、肺泡正常完整,间质均匀且无充血,B 组可见明显水肿出血,肺间质明显增厚,且有大量炎细胞浸润,与 B 组比较,C、D1、D2、D3 组出血症状明显减少,部分肺间质和肺泡的组织结构趋向正常,炎细胞浸润现象明显改善,且人参总皂苷剂量越高,改善越明显,见图 1。

2.3 各组肺组织细胞凋亡结果 与 A 组相比,B 组凋亡率明显升高($P<0.05$);与 B 组相比,C、D1、D2、D3 组凋亡率明显降低($P<0.05$),且随着人参总皂苷的浓度增加,凋亡率随之降低,而 C 组与 D1 组相比差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2、图 2。

表 2 各组肺组织细胞凋亡率、IgG、IgA、IgM、LCN2、AQP4 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	凋亡率(%)	IgG(μg/L)	IgA(μg/L)	IgM(μg/L)	LCN2	AQP4
A 组	12.35±0.95	12.18±2.15	523.36±12.89	128.25±10.15	1.25±0.15	3.52±0.15
B 组	22.25±2.46 ¹⁾	8.51±2.17 ¹⁾	471.51±12.17 ¹⁾	98.51±10.17 ¹⁾	3.15±0.37 ¹⁾	1.74±0.15 ¹⁾
C 组	19.09±1.04 ¹⁾⁽²⁾	23.21±2.21 ¹⁾⁽²⁾	573.21±12.21 ¹⁾⁽²⁾	163.21±10.21 ¹⁾⁽²⁾	2.59±0.31 ¹⁾⁽²⁾	5.01±0.21 ¹⁾⁽²⁾
D1 组	19.06±1.05 ¹⁾⁽²⁾	23.25±2.69 ¹⁾⁽²⁾	573.85±12.69 ¹⁾⁽²⁾	163.75±10.69 ¹⁾⁽²⁾	2.15±0.32 ¹⁾⁽²⁾	5.55±0.22 ¹⁾⁽²⁾
D2 组	15.35±1.05 ¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾	35.35±3.15 ¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾	625.35±13.15 ¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾	255.35±11.15 ¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾	1.83±0.21 ¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾	8.03±0.51 ¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾
D3 组	11.44±0.88 ²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾	46.01±3.22 ²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾	686.01±13.22 ²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾	296.01±11.22 ²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾	1.31±0.15 ²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾	10.98±0.45 ²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾
F/P 值	98.51/<0.001	6.58/<0.001	16.02/<0.001	11.34/<0.001	26.07/<0.001	45.96/<0.001

2.4 各组血清中 IgG、IgA、IgM 含量 与 A 组相比, B 组 IgG、IgA、IgM 含量显著降低($P<0.05$), 与 B 组相比, C、D1、D2、D3 组 IgG、IgA、IgM 含量明显升高($P<0.05$), 且人参总皂苷各剂量组呈剂量依赖趋势, 而 C 组与 D1 组相比无显著差异($P>0.05$), 见表 2。

2.5 各组 LCN2、AQP4 蛋白表达检测结果 与 A 组相比, B 组的 AQP4 的蛋白含量显著降低($P<0.05$), LCN2 显著升高($P<0.05$); 与 B 组相比 C、D1、D2、D3 组的 AQP4 的蛋白含量明显升高($P<0.05$), LCN2 显著降低($P<0.05$), 且人参总皂苷各剂量组呈剂量依赖趋势, 而 C 组与 D1 组相比无明显差异($P>0.05$), 见表 2、图 3。

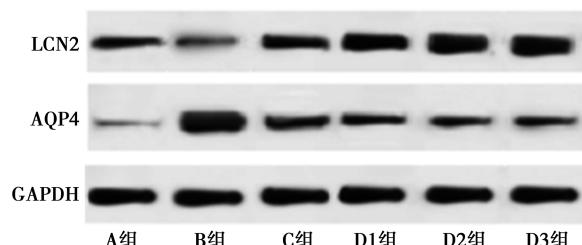


图 3 各组 LCN2、AQP4 蛋白表达

3 讨论

慢阻肺是呼吸系统疾病中的多发病, 有报道显示其已经成为全球第三位致死病因^[12]。约 80% 的患者都会出现慢性呼吸衰竭和慢性肺源性心脏病, 这对患者的生产生活造成了严重的影响^[13]。目前慢阻肺的致病因仍然无法完全阐明, 但国内外研究学者公认的病因为氧化应激、细胞因子炎症、免疫失衡等, 因此抑制炎症因子及氧化应激, 提高机体免疫能力是治疗慢阻肺的根本目标^[14]。

人参的主要药用成分是人参多糖、人参总皂苷、人参皂苷、人参蛋白等, 而人参总皂苷抗炎、抗氧化及免疫调节效果更佳, 众多的专家学者对该药的效果及应用已达成共识^[15]。近年来研究发现, 人参总皂苷对心、肺等器官具有保护作用, 对免疫器官、细

胞及分子均有免疫调节作用^[16]。

本研究发现, 人参总皂苷可以使 LBF、LWC 含量明显降低, 从 HE 结果来看, 人参总皂苷可以有效改善慢阻肺大鼠的肺损伤状况, 且人参总皂苷各剂量组呈剂量依赖趋势。二陈汤加味可以通过多种信号通路抑制氧化损伤, 发挥抗炎作用, 从而做到保护气道及肺结构与功能, 且其疗效稳定; 而人参总皂苷是一种新型的免疫佐剂, 可显著增强机体的免疫功能, 且在抗炎、抗氧化方面发挥着重要作用^[2]。慢阻肺患者的肺器官中会同时出现细胞因子、炎症细胞、炎症介质相互作用的情况, 造成患者的气道壁受损及肺组织的破坏。当机体受到致病因素刺激时, 巨噬细胞等细胞因子会迅速合成、释放, 这使得大量的炎性因子聚集在气道和肺泡内, 从而造成损伤^[1]。慢阻肺中肺水含量升高主要由于肺泡毛细血管内皮和上皮细胞受到损伤, 导致肺水屏障受损、肺脏液体平衡遭到破坏, 从而使之通透性增高, 使液体积聚在肺泡和间质之间, 最终造成了肺血管与间质之间液体交换的障碍^[6]。人参总皂苷主要是通过抑制炎症渗出, 减少损伤, 从而降低微血管通透性使液体平衡恢复, 最终到达改善肺水肿的目的; 对于肺部病理的改善, 其可能是通过抑制细胞因子、炎症细胞、炎症介质相互作用, 使炎症因子逐渐恢复正常, 从而达到减少渗出液、降低远端肺泡可见局部扩张、减轻炎细胞浸润现象的目的^[10]。刘乾等^[17]研究显示, 人参皂苷 Rg1 可以减轻烟熏对大鼠肺结构破坏并改善其肺功能, 降低肺内上皮间充质转化从而改善慢阻肺大鼠的小气道纤维化, 这与本文结果类似。

从凋亡率结果来看, 人参总皂苷可有效抑制细胞凋亡, 且浓度越高抑制越明显。细胞凋亡是基因控制的细胞自主有序死亡的一种基本生物学现象, 一般是为维持内环境稳定而存在的。但是很多疾病的产生与细胞凋亡紊乱有直接或间接的联系, 如在慢阻肺中, 肺组织细胞凋亡在肺损伤及其发生、发展过程中起一定作用。慢阻肺发生肺细胞凋亡主要是由大量细胞因子及炎性因子相互作用所导致的, 而

细胞凋亡会引起肺泡弥散功能下降、机体免疫功能紊乱、共刺激分子表达能力下降,从而使慢阻肺症状加重^[14]。人参总皂苷在现代药理学的深入研究下,已被发现其具有增强机体应激能力、调整内分泌紊乱、抗细胞凋亡等效果^[2]。对于慢阻肺肺组织细胞凋亡,人参总皂苷可能是通过抑制凋亡蛋白酶含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(Caspase)的激活,抑制神经氨酸酶、细胞色素 C、促凋亡蛋白 B 淋巴细胞瘤-2 基因相关 X 蛋白(Bax)、Bak 等的相互作用,从而抑制细胞凋亡等相关因子的产生,抑制血管渗漏及微循环血栓形成,最终达到抑制细胞凋亡的目的^[9]。潘志鹏等^[18]研究表明,人参皂苷 Rb1 对肺气肿大鼠可有效抑制细胞凋亡,抑制损伤性因子的产生,这与本文结果类似。

本文研究发现,人参总皂苷可使 IgG、IgA、IgM、AQP4 的含量及蛋白表达明显升高,LCN2 显著降低,且人参总皂苷各剂量组呈剂量依赖趋势。免疫球蛋白起到的是被动免疫作用,其是免疫应答中最重要和持久的抗体之一,它是抗感染中的主力军;AQP4 在肺泡腔与血管腔间的水转运方面有着重要作用,其可以增强细胞膜的水通透力,是水快速运转的主要途径。在慢阻肺发病过程中会出现免疫紊乱的情况,这就会引起免疫球蛋白的过度消耗,而肺部水肿会使肺水稳态失衡,从而导致水的转运障碍,这就会造成 AQP4 大量消耗以期维持平衡,但过度消耗会使机体的免疫功能及水运转同样出现紊乱,从而造成一个恶性循环;LCN2 主要是作为激素和脂类物质转运至细胞过程中的载体而存在的,但有研究证明,当机体发生感染或炎症时 LCN2 会出现高表达,其可能是造成肺气肿和发生气道重塑的关键因素^[19,20]。人参总皂苷是一类固醇类化合物,对免疫细胞再生、活性都有很高的促进作用,其可有效增强机体的免疫能力。对于免疫球蛋白、AQP4 及 LCN2,人参总皂苷可能是通过调理吞噬细胞、中和炎性因子、维持血管内皮功能稳定、抑制肺组织基质降解及肺组织结构重塑,抑制内源性炎性介质及血纤维蛋白溶解途径等来增加免疫球蛋白、AQP4 的表达并降低 LCN2 表达,从而减少炎性因子,减轻炎症反应,最终有效控制或缓解慢阻肺症状。李笑等^[21]研究发现,补肺阳方可以通过提高大鼠血清中的 IgA、IgM、IgG 水平,来调节机体体液免疫及细胞免疫,从而达到改善慢阻肺免疫失衡状态的目的,这与本文结果类似。

综上所述,人参总皂苷可以有效抑制慢阻肺大鼠肺细胞凋亡,提高免疫球蛋白表达水平,对肺组织

具有保护作用,且呈现浓度依赖性,其作用机制可能与调控 LCN2/AQP4 蛋白表达有关。

4 参考文献

- 1 杨水娇. 平喘止咳汤治疗慢阻肺急性加重期的有效性及细节干预研究[J]. 光明中医, 2021;36(4):584-7.
- 2 戴依懿, 汪佳兵. 人参皂苷 Rg3 对乳腺癌细胞 MDA-MB-453 增殖、迁移及凋亡的影响[J]. 江苏医药, 2020;46(12):1189-93.
- 3 Qu Q, Yang F, Zhao C, et al. Effects of fermented ginseng on the gut microbiota and immunity of rats with antibiotic-associated diarrhea [J]. J Ethnopharmacol, 2021;267:113594.
- 4 茅能勇, 张茹明. 不同剂量泼尼松联合伏立康唑对变应性支气管肺曲霉病患者肺功能及免疫球蛋白 E 水平的影响比较[J]. 中国基层医药, 2020;27(8):917-21.
- 5 董利利, 张磊, 赵二要, 等. 难治性肺炎支原体肺炎患儿免疫球蛋白 T 细胞亚群及炎症因子监测结果分析[J]. 国际医药卫生导报, 2021;27(5):698-700.
- 6 Lee JY, Choi HY, Park CS, et al. Total saponin extract, ginsenoside Rb1, and compound K alleviate peripheral and central neuropathic pain through estrogen receptors on rats[J]. Phytother Res, 2021;35(4):2119-32.
- 7 许斌, 任春梅, 范贵荣, 等. 奥司他韦对流感病毒肺炎模型幼鼠的治疗效果及其对血清免疫球蛋白水平的影响[J]. 重庆医学, 2021;50(1):17-21.
- 8 Chen ZY, Zhang Y, Wu JH, et al. The mechanism of penehyclidine hydrochloride and its effect on the inflammatory response of lung tissue in rats with chronic obstructive pulmonary disease during mechanical ventilation[J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2021;31(16):877-85.
- 9 Xu F, Yu Y, Wang F, et al. Analysis of gene expression profiling of amyloidogenic immunoglobulin light-chains on cultured rat cardiomyocytes[J]. Exp Ther Med, 2020;19(6):3767-77.
- 10 罗文娟, 王灿敏, 叶敏宜. 人参皂苷 Rb1 对百草枯所致呼吸衰竭大鼠肺功能影响及机制研究[J]. 医学研究杂志, 2020;506(2):91-6, 103.
- 11 程晨, 张新芳, 苏景超, 等. 电针对慢性阻塞性肺疾病大鼠肺组织自噬相关蛋白表达的影响[J]. 针刺研究, 2021;46(4):266-71.
- 12 谢坚, 汤洋, 罗丽琳. 人参皂苷 Rg3 对大鼠直肠息肉水通道蛋白 3,4 表达的影响及机制研究[J]. 中药材, 2019;423(5):220-4.
- 13 杨晓瑞, 王江, 潘琼, 等. 奥希替尼联合人参皂苷 Rg3 对非小细胞肺癌 H1975 细胞增殖和凋亡的影响[J]. 新乡医学院学报, 2020;243(11):13-8, 23.
- 14 Bi H, He J, He X, et al. Bone marrow stem cells therapy alleviates vascular injury in a chronic obstructive pulmonary disease-obstructive sleep apnea overlap syndrome rat model[J]. Mol Med Rep, 2021;23(1):69-70.
- 15 张振波, 徐秋萍. 人参皂苷 Rg1 联合抗生素治疗小鼠脓毒症急性肺损伤[J]. 四川大学学报(医学版), 2020;51(3):371-5.
- 16 吴红红, 王伟, 段磊. 厚叶岩白菜素对慢阻肺大鼠肺水通道蛋白表达影响的研究[J]. 医学食疗与健康, 2020;18(7):4165-7.
- 17 刘乾, 管思彬, 韩锋峰, 等. 人参皂苷 Rg1 慢性阻塞性肺疾病大鼠肺组织上皮间充质转化的影响[J]. 实验动物与比较医学,

- 2018;38(6):20-5.
- 18 潘志鹏,王俊,段晨霞,等. 人参皂甙 Rb1 通过促肺泡细胞线粒体自噬以抑制凋亡在大鼠肺气肿模型治疗的机制[J]. 临床肺科杂志,2020;25(5):665-70.
- 19 王吉娥. 平胃散对湿阻中焦证大鼠肝肺肾水通道蛋白影响的研究[D]. 成都:成都中医药大学,2016.
- 20 王丽英,欧阳亮,周瑞,等. 灯盏花素注射液对卒中相关性肺炎

大鼠肺损伤及 AQP1、AQP4、MMP-9 表达的影响[J]. 临床和实验医学杂志,2019;18(18):1909-13.

- 21 李笑,贾新华,韩晓春,等. 补肺阳方对慢性阻塞性肺疾病肺阳虚证大鼠 T 淋巴细胞及血清免疫球蛋白亚型的影响[J]. 中国中西医结合杂志,2020;40(5):102-7.

[2021-04-18 修回]

(编辑 王一涵)

β3 肾上腺素能受体阻滞剂对老年冠心病大鼠心功能的影响

邵岩¹ 尹璐² 王杰³ 王强¹

(青海省人民医院 1 心脏大血管外科, 青海 西宁 810000; 2 高压氧科; 3 麻醉科)

[摘要] 目的 探究 β3 肾上腺素能受体(β3-AR)阻滞剂 SR59230A 对老年冠心病大鼠心功能及血管内皮功能的影响及作用机制。方法 30 只雄性 20 月龄 SPF 级 SD 大鼠随机分为对照组($n=10$)、模型组($n=10$)、β3-AR 阻滞剂 SR59230A 组(干预组, $n=10$)，模型组采用高脂饲料饮+腹腔注射脑垂体后叶素构建冠心病大鼠模型，干预组在模型组基础上分别给予 30、50、70 μg/kg SR59230A 腹腔注射并记为低、中、高剂量干预组，每组 10 只，对照组及模型组给予等量生理盐水腹腔注射，2 次/w，连续干预 8 w。观察大鼠心肌组织病理变化，检测干预前后心功能指标、血流动力学指标、血清心室重构分子变化，比较心肌组织心肌酶指标、β3-AR 及成纤维细胞生长因子(FGF)-2、血管内皮生长因子(VEGF)等血管内皮功能标志因子表达。结果 光镜下模型组心肌组织细胞形态发生明显改变，细胞体积明显缩小，核固缩明显，各干预组心肌组织细胞水肿状态均较模型组有所改善，高剂量干预组细胞肿胀程度缓解最为明显，细胞形态基本趋于正常。与模型组相比，各干预组左室舒张末期内径(LVEDd)、左室收缩末期内径(LVESd)、左室舒张末期压力(LVEDP)等心功能指标和血流动力学指标则均明显降低($P<0.05$)，计算左室射血分数(LVEF)、左室短轴缩短率(LVFS)及左室收缩压(LVSP)、左室内压上升最大速率(+dp/dtmax)、左室内压下降最大速率(-dp/dtmax)等指标明显升高($P<0.05$)，其血清血管紧张素(Ang)Ⅱ、非对称性二甲基精氨酸(ADMA)等血管心室重构分子水平明显降低($P<0.05$)，超氧化物歧化酶(SOD)活性明显升高，丙二醛(MDA)含量明显降低，β3-AR 基因及蛋白表达水平明显降低，FGF-2、VEGF 基因及蛋白表达水平明显升高(均 $P<0.05$)；高剂量干预组 LVEDd、LVESd、LVEDP 明显低于低、中剂量干预组($P<0.05$)，LVFS、LVEF、LVSP、+dp/dtmax、-dp/dtmax 明显高于低、中剂量干预组($P<0.05$)，其血清 Ang Ⅱ、ADMA 水平则明显降低，SOD 活性明显升高，MDA 含量明显降低，β3-AR 基因及蛋白表达水平明显降低，FGF-2、VEGF 基因及蛋白表达水平明显升高(均 $P<0.05$)。结论 β3 肾上腺素能受体阻滞剂可通过下调 β3-AR 表达，促进大鼠血管 FGF-2 和 VEGF 表达上调，减轻血管内皮损伤和心室重构，改善冠心病大鼠心功能。

[关键词] β3 肾上腺素能受体;SR59230A; 冠心病; 心功能; 心室重构

[中图分类号] R335+.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9202(2023)11-2770-05; doi:10.3969/j.issn.1005-9202.2023.11.056

冠心病是一类病情变化较为复杂、诱发因素较多的常见中老年心脑血管疾病，结合既往临床资料显示，可诱发冠心病发生发展的因素包括因血管狭窄及阻塞所导致的心肌缺血、缺氧及心脏疾病等，因合并疾病较多也对患者身心健康造成不良影响^[1,2]。冠心病的发生与神经内分泌、心肌细胞电生理及血流动力学异常等多种机制相关，其中，β 肾上腺素能受体(β-AR)的调节在冠心病的发生中起重要作用^[3]。文献指出，心力衰竭时 β3-AR 表达显著升高^[4]。在慢性心力衰竭时，β3-AR 可对心室肌产生负性肌力作用，参与心房重构调节^[5]。

第一作者：邵岩(1984-)，男，主治医师，硕士，主要从事心外科疾病诊治研究。

SR59230A 作为 β3-AR 阻滞剂，已被证实具有心脏保护作用，但其在冠心病中对血管内皮损伤的作用及机制尚不明确。目前关于冠心病中 β3-AR 的作用未见报道。本研究探讨 β3 肾上腺素能受体阻滞剂对老年冠心病大鼠心功能的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 20 月龄 SPF 级 SD 雌性大鼠 50 只，体质量 500~550 g，购于广东省动物实验中心，均饲养于生物安全实验室，饲养用具均作高压灭菌及紫外线消毒处理，分笼饲养，自由饮食饮水，保持室内安静、通风，12 h 间隔照明，室温恒定 20℃，相对湿度 40%~70%。本研究严格遵循《实验动物管理条例及使用指南》，并通过伦理委员会审核。