

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2018.20.013

实验研究

芪丹利心丸对心肌梗死大鼠左心室心肌组织 miR-133a/TGF- β 1/CTGF 信号通路的影响

陈慧洋¹, 姜利霞¹, 赵一舟¹, 李春红¹, 黄涯¹, 张冬梅¹,
王帅², 侯雅竹², 吴爱明^{*}, 商洪才¹

(1. 北京中医药大学东直门医院 / 中医内科学教育部和北京市重点实验室, 北京市东城区海运仓 5 号, 100700; 2. 天津中医药大学第一附属医院)

摘要 目的 探讨芪丹利心丸防治心肌梗死后心肌纤维化的可能作用机制。方法 采用左冠状动脉结扎术建立心肌梗死大鼠模型, 随机分为模型组、卡托普利组和芪丹利心丸组, 另设假手术组只穿线不结扎, 每组 10 只。术后第 2 天, 芪丹利心丸组给予芪丹利心丸 2.43 g/(kg·d) 灌胃, 卡托普利组给予卡托普利片 2.25 mg/(kg·d) 灌胃, 假手术组和模型组给予去离子水 10 ml/(kg·d) 灌胃。4 周后检测各组心脏血流动力学指标 [包括心率 (HR)、左心室收缩压 (LVSP)、左心室舒张末压 (LVEDP)、左心室内压最大上升速率 (+dp/dt max)、左心室内压最大下降速率 (-dp/dt max)], 称取左心室重量 (LVM) 并计算左心室质量指数 (LVMI), HE 染色进行病理学观察, Masson 染色计算胶原容积分数 (CVF), 检测左心室心肌组织 miR-133a、转化生长因子 β 1 (TGF- β 1) 和结缔组织生长因子 (CTGF) mRNA 及 TGF- β 1、CTGF 蛋白表达情况。结果 与假手术组比较, 模型组 LVSP、+dp/dt max、-dp/dt max 下降, LVEDP 升高, LVMI、CVF 增大, miR-133a 下调, TGF- β 1 和 CTGF 蛋白及 mRNA 表达增多 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 芪丹利心丸组 LVSP、+dp/dt max、-dp/dt max 上升, LVEDP 降低, LVMI、CVF 减小, miR-133a 上调, TGF- β 1 和 CTGF 蛋白及 mRNA 表达减少 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。HE 染色显示, 模型组见梗死边缘区残存的心肌纤维混乱、部分断裂, 肌间隙增宽明显, 而卡托普利组和芪丹利心丸组心肌梗死边缘区心肌纤维走行相对规整, 多数胞膜基本完整。结论 芪丹利心丸可防治心肌梗死大鼠心肌纤维化, 其机制可能与 miR-133a/TGF- β 1/CTGF 信号通路有关。

关键词 心肌梗死; 心肌纤维化; 芪丹利心丸; 转化生长因子 β 1; 结缔组织生长因子; miR-133a

心肌纤维化是心肌梗死后心力衰竭的组织病理学基础之一, 表现为过量胶原沉积及胶原比例失调, 可加速心功能恶化最终导致心力衰竭^[1]。近年发现 miRNAs 在心肌纤维化的发生发展中扮演了重要角色, 并有望成为抑制心肌纤维化的新靶点^[2]。现代药理研究表明, 多种中药或其成分能够在一定程度上减轻心肌纤维化^[3]。芪丹利心丸 (原名: 优化新生脉散方) 是天津中医药大学第一附属医院防治冠心病心力衰竭的专利方 (专利号: ZL 201110413471.1)。前期研究发现,

芪丹利心丸可有效缓解冠心病心力衰竭患者临床症状, 改善心功能, 疗效确切^[4]。本研究探讨芪丹利心丸对心肌梗死后大鼠心肌纤维化的影响及可能作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 40 只, 6 周龄, 体重 (180 ± 20) g, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 实验动物许可证号: SCXK (京) 2012-0001。

1.2 药物

芪丹利心丸由黄芪、党参、刺五加、丹参、葶苈子等组成 (比例为 3 : 3 : 3 : 3 : 2), 由天津

基金项目: 国家中医药管理局国家中医临床研究基地业务建设科研专项课题 (JDZX2015008)

* 通讯作者: wam688@163.com, (010) 84013190

中医药大学第一附属医院提供。卡托普利片 (12.5 mg/片) 为中美上海施贵宝制药有限公司产品 (批号: AAN9869)。

1.3 主要试剂及仪器

戊巴比妥钠 (北京化学试剂公司, 批号: 020919); Trizol (Thermo Fisher Scientific, 货号: 15596026); miRNA 提取试剂盒 (QIAGEN 公司, 货号: 217004); miRNA 反转录试剂盒、miR-133a 反转录引物及 Real-time PCR 扩增试剂盒 (ABI 公司, 货号: 4366596、4427975、4472897); HE 染色液和 Masson 染色液 (南京建成科技有限公司, 货号: D006、D026); 兔抗转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)、结缔组织生长因子 (CTGF) 抗体 (Abcam 公司, 货号: ab92486、ab6992); 兔二步法试剂盒 (北京中杉金桥生物技术有限公司, 货号: PV-6001)。

5/0 手术线 (上海医用缝合针厂有限公司); 电子天平 (上海精密科学仪器有限公司, 型号: JA1003N); 小动物呼吸机 (上海奥尔科特生物科技有限公司, 型号: ALC-V8S); 多道自动分析心电图机 (北京福田电子医疗仪器有限公司, 型号: FX-7202); 生物机能实验信号采集系统 (成都泰盟软件有限公司, 型号: BL-420S); 基因扩增仪 (美国 ABI 公司, 型号: GeneAmpPCR system9700); 实时荧光定量 PCR 仪 (美国安捷伦科技公司, 型号: StratageneMx3000P); 紫外分光光度计 (Pharmacia Biotech 公司, 型号: gene Quant); 光学显微镜 (卡尔蔡司股份公司, 型号: AxioScope. A1)。

1.4 造模、分组及给药

参照文献 [5] 建立心肌梗死大鼠模型, 具体如下: 1% 戊巴比妥钠 0.5 ml/100 g 腹腔注射麻醉后仰卧位固定并经喉气管插管, 心前区第 3、4 肋间横向开胸, 在肺动脉圆锥与左心耳之间下缘约 1 mm 处用 5/0 手术线结扎左冠状动脉前降支, 见心前壁缺血变白且心电图显示 ST 段抬高后, 立即关胸, 逐层缝合。术后 24 小时心电图见病理性 Q 波提示结扎手术成功。假手术组平行操作, 但只穿线不结扎。术后连续 3 天注射青霉素 40U 预防感染。大鼠术后采用随机数字法分为模型组、卡托普利组、芪丹利心丸组, 另设假手术组, 每组 10 只。术后第 2 天, 药物采用去离子水充分混匀, 芪丹利心丸组给予芪丹利心丸混悬液 2.43 g/(kg·d) 灌胃 (相当于成人临床用量的等效剂量 [6]), 卡托普利组给予卡托普利片混悬液 2.25 mg/(kg·d) 灌胃

(相当于成人临床用量的 6.3 倍), 假手术组和模型组给予等体积去离子水灌胃。灌胃体积 10 ml/(kg·d), 连续治疗 4 周。

1.5 观察指标及方法

1.5.1 血流动力学 大鼠以 1% 戊巴比妥钠 (0.5 ml/100 g) 腹腔注射麻醉, 仰卧位固定, 颈部正中皮肤备皮消毒, 钝性分离颈前肌群并暴露右颈总动脉, 虹膜剪横向剪开动脉 1 mm, 持经肝素冲灌过的导管插入左心室, 稳定 5 min 后检测以下指标: 心率 (HR)、左心室收缩压 (LVSP)、左心室舒张末压 (LVEDP)、左室内压最大上升速率 (+dp/dt max)、左室内压最大下降速率 (-dp/dt max)。

1.5.2 左心室质量指数 (LVMI) 取材前记录体重 (BM), 取材时迅速取出心脏, 预冷生理盐水冲洗残余血液, 滤纸吸干, 去除右心房、右心室和左心耳, 电子天平称取左心室质量 (LVM)。LVMI = LVM (mg) / BM (g)。

1.5.3 左心室心肌组织病理学检测 心肌组织石蜡包埋, 制作 4 μ m 切片, 脱蜡后梯度入水。HE 染色: 核染色 5 min, 水洗 10 s, 胞浆染色 2 min, 增色液冲洗 10 s $\times$ 2 次, 脱水透明后中性树胶封片, 镜下观察左心室心肌组织 (40 $\times$)。Masson 染色: 核染色 60 s, 冲洗 30 s, 胞浆染色 40 s, 冲洗 30 s, 分色 8 min 后弃去分色液, 苯胺蓝染色 2.5 min, 冲洗 10 s, 脱水透明后中性树胶封片, 采用 Image-Pro Plus 6.0 分析胶原含量, 计算胶原容积分数 (CVF), CVF = 胶原面积 / (心肌面积 + 胶原面积) $\times$ 100%。每张切片于镜下取 5 个无重叠视野 (20 $\times$), 取均值代表该组织 CVF。

1.5.4 左心室心肌组织 miR-133a、TGF- $\beta 1$ 及 CTGF mRNA 检测 采用 Trizol 法提取心肌组织总 RNA。核酸紫外分光光度计测定 OD₂₆₀/OD₂₈₀, 取值为 1.8 ~ 2.0, 计算各样本总 RNA 浓度, 按照试剂盒说明书配制反转录反应体系并进行 Real-time PCR。miR-133a 引物购自 ABI 公司, 扩增条件: 94 $^{\circ}$ C 预变性 10 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 15 s, 60 $^{\circ}$ C 退火 60 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 s, 循环 45 次。以 U6 为内参, 采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 代表各样本 miR-133a 表达变化。引物序列为: miR-133a: 上游 5'-ATGGTTTCGTGCGTTTGCTC-CCCTTCAACC-3', 下游 5'-GCAGGGTCCGAGGTAT-TC-3'; U6: 上游 5'-GCTTCGGCAGCACATATACTAAAT-3', 下游 5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGT-CAT-3'。从 NCBI 检索 TGF- $\beta 1$ 、CTGF 基因序列,

采用 Primer 6.0 设计引物,引物由北京诺赛基因组研究中心有限公司合成。TGF- β 1、CTGF 扩增条件均为: 95℃ 预变性 10 min, 95℃ 变性 30 s, 55℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 20 s, 循环 40 次。以 β -actin 为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 代表各样本 TGF- β 1、CTGF 表达变化。引物序列为: TGF- β 1: 上游 5'-GCAA-CAACGCAATCTATGA-3', 下游 5'-CAAGGTAACGC-CAGGAAT-3'; CTGF: 上游 5'-CTATGATGCGAGC-CAACT-3', 下游 5'-CGGTAGGTCTTCACACTG-3'; β -actin: 上游 5'-TACCCATTGAACACGGCAT-3', 下游 5'-AGGCATACAGGGACAACACA-3'。

1.5.5 左心室心肌组织 TGF- β 1 和 CTGF 蛋白检测

采用免疫组织化学法,心肌组织石蜡包埋,制作 4 μ m 切片,脱蜡后梯度入水,柠檬酸盐 pH 6.0 微波热修复,冷却至室温后 PBS 溶液漂洗 5 min,滴加内源性过氧化物酶阻断剂后室温孵育 10 min, PBS 溶液漂洗 5 min $\times$ 3 次,滴加一抗 (TGF- β 1 1 : 400, CTGF 1 : 800),置湿盒中 4℃ 孵育过夜,复温 30 min, PBS 溶液漂洗 5 min $\times$ 3 次,滴加酶标山羊抗兔 IgG 聚合物后湿盒中 37℃ 孵育 20 min, PBS 溶液漂洗 5 min $\times$ 3 次, DAB 显色 2 min,脱水透明后中性树胶封片。阴性对照以抗体稀释液代替一抗孵育,其余步骤相同。每张切片于镜下取 5 个无重叠视野,采用 Image-Pro Plus 6.0 分析单位面积积分光密度值,对目标蛋白的表达作半定量分析。

1.6 统计学方法

使用 SPSS 22.0 软件统计分析。计量资料符合正态分布的采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,用单因素方差分析,组间比较采用 LSD 法。不符合正态分布的组间比较采用秩和检验 Kruskal-Wallis 法。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠血流动力学指标比较

表 1 示,各组大鼠 HR 比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。与假手术组比较,模型组 LVSP、+ dp/dt max, - dp/dt max 降低, LVEDP 升高 ($P <$

0.01)。与模型组比较,卡托普利组 LVEDP 降低, + dp/dt max, - dp/dt max 升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 芪丹利心丸组 LVSP、+ dp/dt max, - dp/dt max 升高, LVEDP 降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与卡托普利组比较,芪丹利心丸组大鼠 LVEDP 降低 ($P < 0.01$), 其余各项指标差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.2 各组大鼠 BM、LVM、LVMI 比较

表 2 示,与假手术组比较,模型组 LVM、LVMI 增大 ($P < 0.01$), BM 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与模型组比较,卡托普利组和芪丹利心丸组 LVMI 均减小 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), LVM 与 BM 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与卡托普利组比较,芪丹利心丸组各项指标差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 2 各组大鼠 BM、LVM、LVMI 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	LVM (mg)	BM (g)	LVMI (mg/g)
假手术组	10	679.20 $\pm$ 38.82	327.70 $\pm$ 21.29	2.07 $\pm$ 0.06
模型组	10	823.70 $\pm$ 65.84*	335.80 $\pm$ 18.50	2.45 $\pm$ 0.09*
卡托普利组	10	749.10 $\pm$ 84.76	320.70 $\pm$ 35.20	2.34 $\pm$ 0.11 Δ
芪丹利心丸组	10	767.20 $\pm$ 52.93	330.30 $\pm$ 12.48	2.32 $\pm$ 0.11 $\Delta\Delta$

注: LVM, 左心室质量; BM, 体重; LVMI, 左心室质量指数; 与假手术组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

2.3 各组大鼠左心室心肌组织 HE 染色结果

假手术组见心肌纤维排列紧密整齐、细胞核清晰,胞浆均一红染,胞膜完整,界限清晰;模型组见梗死边缘区残存的心肌纤维混乱、部分断裂,肌间隙增宽明显,胞浆染色深浅不一;卡托普利组和芪丹利心丸组基本一致,表现为心肌梗死边缘区心肌纤维走形相对规整,多数胞膜基本完整。

2.4 各组大鼠左心室心肌组织 Masson 染色结果及 CVF 比较

Masson 染色结果显示:假手术组心肌间隙见少量胶原;模型组心肌间隙见大量胶原堆积,胶原增生明显;与模型组比较,卡托普利组与芪丹利心丸组心肌间隙胶原沉积相对减少,二者无明显差异。

表 1 各组大鼠血流动力学指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	HR (bpm)	LVSP (mmHg)	LVEDP (mmHg)	+ dp/dt max (mmHg/s)	- dp/dt max (mmHg/s)
假手术组	10	421.20 $\pm$ 28.87	175.33 $\pm$ 15.50	-6.88 $\pm$ 4.04	6374.63 $\pm$ 509.47	5520.87 $\pm$ 809.85
模型组	10	404.40 $\pm$ 26.71	135.77 $\pm$ 12.77*	27.50 $\pm$ 12.44*	2772.58 $\pm$ 583.22*	2741.82 $\pm$ 452.17*
卡托普利组	10	428.30 $\pm$ 33.05	146.68 $\pm$ 21.55	13.55 $\pm$ 9.51 $\Delta\Delta$	3670.41 $\pm$ 397.83 $\Delta\Delta$	3428.71 $\pm$ 403.98 Δ
芪丹利心丸组	10	411.20 $\pm$ 47.14	151.51 $\pm$ 14.89 Δ	-0.54 $\pm$ 9.88 $\Delta\Delta\Delta$	4944.78 $\pm$ 1407.89 $\Delta\Delta$	4043.02 $\pm$ 1059.31 Δ

注: HR, 心率; LVSP, 左心室收缩压; LVEDP, 左心室舒张末压; + dp/dt max, 左心室内压最大上升速率; - dp/dt max, 左心室内压最大下降速率; 与假手术组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与卡托普利组比较, $\Delta\Delta\Delta P < 0.01$

表 3 示,与假手术组比较,模型组 CVF 增大 ($P < 0.01$);与模型组比较,卡托普利组、芪丹利心丸组 CVF 均减小 ($P < 0.01$)。芪丹利心丸组 CVF 与卡托普利组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 3 各组大鼠左心室心肌组织 CVF 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	CVF (%)
假手术组	10	3.52 ± 0.67
模型组	10	30.90 ± 3.23*
卡托普利组	10	19.76 ± 3.31 [△]
芪丹利心丸组	10	20.69 ± 6.97 [△]

注: CVF, 胶原容积分数; 与假手术组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.01$

2.5 各组大鼠左心室心肌组织 miR-133a 及 TGF- β 1、CTGF mRNA 表达比较

表 4 示,与假手术组比较,模型组 miR-133a 表达减少, TGF- β 1、CTGF mRNA 表达增多 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组比较,卡托普利组、芪丹利心丸组 miR-133a 表达增多, TGF- β 1 mRNA 表达减少 ($P < 0.01$), 芪丹利心丸组 CTGF mRNA 表达减少 ($P < 0.01$)。与卡托普利组比较,芪丹利心丸组 miR-133 表达增多, CTGF mRNA 减少 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

表 4 各组大鼠左心室心肌组织 miR-133a 及 TGF- β 1、CTGF mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	miR-133a	TGF- β 1 mRNA	CTGF mRNA
假手术组	10	1.15 ± 0.18	0.98 ± 0.26	0.29 ± 0.03
模型组	10	0.32 ± 0.10**	1.32 ± 0.33*	2.11 ± 0.35**
卡托普利组	10	0.60 ± 0.23 [△]	0.73 ± 0.30 [△]	1.51 ± 0.58
芪丹利心丸组	10	0.97 ± 0.27 ^{△▲}	0.92 ± 0.37 [△]	1.01 ± 0.45 ^{△▲}

注: TGF- β 1, 转化生长因子 β 1; CTGF, 结缔组织生长因子; 与假手术组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.01$; 与卡托普利组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

2.6 各组大鼠左心室心肌组织 TGF- β 1、CTGF 蛋白表达比较

表 5 示,与假手术组比较,模型组 TGF- β 1、CTGF 蛋白表达增多 ($P < 0.01$)。与模型组比较,

表 5 各组大鼠左心室心肌组织 TGF- β 1、CTGF 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	TGF- β 1	CTGF
假手术组	10	0.09 ± 0.01	0.19 ± 0.01
模型组	10	0.20 ± 0.02*	0.23 ± 0.01*
卡托普利组	10	0.15 ± 0.02 ^{△△}	0.26 ± 0.03
芪丹利心丸组	10	0.16 ± 0.03 [△]	0.22 ± 0.01 ^{△▲}

注: TGF- β 1, 转化生长因子 β 1; CTGF, 结缔组织生长因子; 与假手术组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与卡托普利组比较, $\Delta P < 0.05$

卡托普利组和芪丹利心丸组 TGF- β 1 蛋白表达减少, 芪丹利心丸组 CTGF 蛋白表达减少 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与卡托普利组比较, 芪丹利心丸组 CTGF 蛋白表达减少 ($P < 0.05$)。

3 讨论

心肌纤维化是心肌梗死后心力衰竭的关键病理因素,其临床表现归属于中医学“胸痹”“心悸”“喘证”范畴。心肌梗死后常见气虚血瘀水湿证^[1]。气虚血瘀、水湿泛滥不仅导致周身血脉气血失调,病邪更积聚胶结于心络,进一步加重心气痹阻,这种病理变化特征与现代医学心肌纤维化的病理机制相似,因此,当前多以益气活血化瘀作为防治心肌纤维化的主要治则^[2]。芪丹利心丸全方以益气活血利水养阴为基本治则,重用黄芪、党参、刺五加补益脾、肺、肾气,配以丹参活血化瘀,另辅以葶苈子等利水养阴。

本实验建立心肌梗死大鼠模型后发现,模型组大鼠术后 4 周心功能明显下降,表现为血流动力学显著恶化,与李春等^[3]的报道一致,提示心肌梗死大鼠 4 周已有心力衰竭表现,而芪丹利心丸、卡托普利可一定程度改善心肌梗死后大鼠血流动力学。本研究结果亦显示,芪丹利心丸不仅能改善血流动力学,还可一定程度抑制心室重构。心室重构是导致心肌梗死后心力衰竭大鼠血流动力学恶化的关键因素,而心肌纤维化是心室重构的重要内容^[4]。芪丹利心丸和卡托普利可在一定程度上改善心室重构,表现为减小 LVMI 和 CVF。

心肌纤维化包含复杂的基因调控过程,心肌特异性 miRNAs 在心肌梗死后心力衰竭病理过程中发挥了重要调控作用^[5,6]。miR-133a 是正常心肌细胞和肌源性细胞高表达的一种 miRNA,参与了多种涉及心室重构的疾病发展过程^[7]。本研究发现模型组大鼠左心室心肌 miR-133a 表达显著下调,与我们前期 miRNA 芯片结果一致^[8]。研究显示,过表达 miR-133a 可提高大鼠心功能和减轻纤维化,而抑制 miR-133a 表达后大鼠心功能下降,心肌纤维化程度加重^[9]。本研究结果显示,卡托普利组、芪丹利心丸组 miR-133a 均较模型组升高,提示芪丹利心丸、卡托普利片可提高左心室心肌 miR-133a 表达水平,可能是两药减轻心肌纤维化的机制之一。TargetScan 数据库 (miRNA 靶基因预测数据库) 显示 TGF- β 1 mRNA、CTGF mRNA 序列上均存在 miR-133a 的结合位点,且 TGF- β 1、CTGF 也

是公认的促纤维化细胞因子^[2]。miR-133a 能调控 TGF- β 1、CTGF 的表达进而调控纤维化^[3-4]。本研究显示,模型组 TGF- β 1、CTGF mRNA 和蛋白表达增加,提示 miR-133a 下调可能降低了对下游 TGF- β 1 和 CTGF 的抑制作用,进而导致胶原过度增生。与模型组比较,卡托普利组 TGF- β 1 mRNA 和蛋白表达减少,CTGF mRNA 和蛋白表达无差异,这与 Dean 等^[5]的研究结果一致。芪丹利心丸组 TGF- β 1、CTGF mRNA 和蛋白表达均减少,提示芪丹利心丸改善心肌纤维化的作用与 TGF- β 1 和 CTGF 均有关。

综上所述,芪丹利心丸能在一定程度上改善心肌梗死后大鼠的心脏血流动力学并减轻心肌纤维化,其作用机制可能与 miR-133a/TGF- β 1/CTGF 信号通路有关。

参考文献

- [1] SEGURA AM, FRAZIER OH, BUJA LM. Fibrosis and heart failure [J]. Heart Fail Rev, 2014, 19(2): 173-185.
- [2] TAO H, YANG JJ, SHI KH. Non-coding RNAs as direct and indirect modulators of epigenetic mechanism regulation of cardiac fibrosis [J]. Expert Opin Ther Targets, 2015, 19(5): 707-716.
- [3] 黄牧华,周华. 中医药干预心肌纤维化机制研究进展 [J]. 上海中医药大学学报, 2016, 30(1): 81-86.
- [4] 王贤良,袁杨,毛静远,等. 优化新生脉散方联合西药治疗慢性心力衰竭单病例交叉随机对照研究 [J]. 中医杂志, 2015, 56(21): 1849-1853.
- [5] WU A, LOU L, ZHAI J, et al. miRNA expression profile and effect of Wenxin Granule in rats with ligation-induced myocardial infarction [J]. Int J Genomics, 2017, 2017: 2175871. doi: 10.1155/2017/2175871.
- [6] 徐淑云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学 [M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 202-203.
- [7] 吕仕超,张军平. 以心肌纤维化为病理基础的心系疾病证候差异 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2014, 16(1): 83-85.
- [8] 李春,王勇,欧阳雨林,等. 益心解毒方改善心肌梗死后心力衰竭大鼠心功能的作用研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(13): 165-168.
- [9] CHISTIakov DA, OREKHOV AN, BOBRYshev YV. Cardiac-specific miRNA in cardiogenesis, heart function, and cardiac pathology (with focus on myocardial infarction) [J]. J Mol Cell Cardiol, 2016, 94: 107-121. doi: 10.1016/j.yjmcc.2016.03.015.
- [10] LIU Y, LIANG Y, ZHANG JF, et al. MicroRNA-133 mediates cardiac diseases: Mechanisms and clinical implications [J]. Exp Cell Res, 2017, 354(2): 65-70.
- [11] SANG HQ, JIANG ZM, ZHAO QP, et al. MicroRNA-133a improves the cardiac function and fibrosis through inhibiting Akt in heart failure rats [J]. Biomed Pharmacother, 2015, 71: 185-189. doi: 10.1016/j.biopha.2015.02.030.
- [12] FRANGOGIANNIS NG. The role of transforming growth factor (TGF)- β in the infarcted myocardium [J]. J Thorac Dis, 2017, 9(Suppl 1): 52-63.
- [13] DUAN LJ, QI J, KONG XJ, et al. MiR-133 modulates TGF- β 1-induced bladder smooth muscle cell hypertrophic and fibrotic response: implication for a role of microRNA in bladder wall remodeling caused by bladder outlet obstruction [J]. Cell Signal, 2015, 27(2): 215-227.
- [14] DUISTERS RF, TIJSEN AJ, SCHROEN B, et al. miR-133 and miR-30 regulate connective tissue growth factor: implications for a role of microRNAs in myocardial matrix remodeling [J]. Circ Res, 2009, 104(2): 170-178.
- [15] DEAN RG, BALDING LC, CANDIDO R, et al. Connective tissue growth factor and cardiac fibrosis after myocardial infarction [J]. J Histochem Cytochem, 2005, 53(10): 1245-1256.

Effects of *Qidan Lixin Pill* (芪丹利心丸) on miR-133a/TGF- β 1/CTGF Signaling Pathway in Left Ventricle Myocardial Tissue of Myocardial Infarction

CHEN Huiyang¹, LOU Lixia¹, ZHAO Yizhou¹, LI Chunhong¹, HUANG Ya¹, ZHANG Dongmei¹, WANG Shuai², HOU Yazhu², WU Aiming¹, SHANG Hongcai¹

(1. Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Key Laboratory of Chinese Internal Medicine by Ministry of Education and Beijing, Beijing, 100700; 2. First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine)

ABSTRACT Objective To investigate the possible mechanism of *Qidan Lixin Pill* (芪丹利心丸) in prevention and treatment of myocardial fibrosis after myocardial infarction. **Methods** Rat models of myocardial infarction were established by permanent left coronary artery ligation and were randomly divided into model group, captopril group and *Qidan Lixin Pill* group, and a sham-operation group was threaded without ligating, with 10 rats in each group. On the second day after surgery rats were administered intragastrically for 4 weeks, and *Qidan Lixin Pill* group was given

Qidan Lixin Pill 2.43 g/(kg·d), captopril group given captopril tablet 2.25 mg/(kg·d), and the other groups given 10 ml/(kg·d) of deionized water for intragastric administration. After 4 weeks, the cardiac hemodynamics indicators including heart rate (HR), left ventricular systolic pressure (LVSP), left ventricular end-diastolic pressure (LVEDP), maximum rate of increase in left ventricular pressure (+dp/dt max), maximum rate of decrease in left ventricular pressure (-dp/dt max) were detected. The left ventricular mass (LVM) was weighed, the left ventricular mass index (LVMI) calculated, and HE staining was used for pathological observation while Masson staining was used to calculate collagen volume fraction (CVF). The miR-133a, the expressions of mRNA and protein of transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) and connective tissue growth factor (CTGF) in each group were detected.

Results Compared with sham-operation group, the LVSP and +dp/dt max, -dp/dt max in model group were decreased while LVEDP was increased, LVMI and CVF increased, miR-133a decreased, and the expressions of mRNA and TGF- β 1 and CTGF protein were increased ($P < 0.01$). Compared with the model group, the LVSP and +dp/dt max, -dp/dt max in *Qidan Lixin Pill* group were increased while LVEDP was decreased, LVMI and CVF decreased, miR-133a increased, and the expressions of mRNA and TGF- β 1 and CTGF protein were decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The HE staining results showed that the residual myocardial fibers were disordered and partly fractured, and the muscle space was widened obviously in model group. The myocardial fibers in the peripheral areas of myocardial infarction were relatively regular in shape, and most of the cell membranes were basically complete in both captopril group and *Qidan Lixin Pill* group.

Conclusion *Qidan Lixin Pill* can prevent myocardial fibrosis in rats with myocardial infarction, and the intervention mechanism may be related to miR-133a/TGF- β 1/CTGF signaling pathway.

Keywords myocardial infarction; myocardial fibrosis; *Qidan Lixin Pill*; transforming growth factor- β 1; connective tissue growth factor; miR-133a

(收稿日期: 2018-06-14; 修回日期: 2018-08-08)

编辑: 邓 媛

第九届国际中医妇科学术大会参会通知 (第二轮通知)

由世界中医药学会联合会妇科专业委员会主办, 湖北福人药业股份有限公司协办的“第九届国际中医妇科学术大会”, 以“生殖障碍性疾病及妇科炎症性病变中医诊疗研究”为主题, 拟定于 2018 年 11 月 9—11 日在中国·湖北省武汉市举行, 届时将举办妇科炎症性病变中医诊疗高级论坛, 并设“福人杯”金刚藤胶囊有奖征文活动, 评选优秀学术论文。同时邀请国内外著名妇科专家进行专题学术讲座。现将有关事宜通知如下:

一、征文内容: 1. 名老中医对妇科炎症及生殖障碍性疾病的诊疗方案及学术经验; 2. 妇科炎症及生殖障碍性疾病的中医诊治优势及其特色疗法; 3. 新技术、新疗法在诊治妇科炎症及生殖障碍性疾病中的应用及最新研究进展; 4. 医家诊治妇科炎症及生殖障碍性疾病经验挖掘与文献整理; 5. 金刚藤胶囊组方研究、药理作用及临床应用; 6. 金刚藤胶囊药效基础及安全性观察; 7. 金刚藤胶囊深层次开发思路及远景规划。

二、会议时间: 2018 年 11 月 9—11 日, 11 月 9 日 14:00 时—24:00 时报到。

三、会议地点: 湖北中核国际酒店, 地址: 湖北省武汉市蔡甸区凤凰山开发区凤凰路 1 号。

四、会议费用: 会务及培训费 1200 元 (在读研究生凭身份证及研究生证 800 元), 会议统一安排食宿, 交通及住宿费自理。

五、特别提示: 1. 妇科专业委员会理事务必参会, 不参会视为自动放弃理事资格; 2. 所有参会人员请于 10 月 10 日前以电子邮件提交参会回执, 以便安排会议资料及用房等相关事宜; 3. 会期评选优秀学术论文, 颁发“福人杯”金刚藤胶囊有奖征文一、二、三等奖奖金及证书; 4. 论文投稿截止日期: 2018 年 9 月 30 日。

六、会议负责人及联系方式: 刘丹卓, 13787132521, flkh189@163.com; 通讯地址: 410007, 湖南省长沙市雨花区韶山中路 113 号湖南中医药大学。