

黄芩抑制脂多糖/三磷酸腺苷诱导的内皮细胞NIMA相关蛋白激酶7 (NEK7)表达和Nod样受体蛋白3(NLRP3)炎症小体激活

王新东^{1,2}, 孙雪梅², 祁晓霞³

(1. 南京中医药大学附属中西医结合医院, 江苏南京 210028; 2. 南京中医药大学第三临床学院, 江苏南京 210028; 3. 南京中医药大学科学技术与产业处, 江苏南京 210023)

摘要:【目的】观察黄芩和黄芩苷对脂多糖(LPS)/三磷酸腺苷(ATP)诱导的人脐静脉内皮细胞(HUVECs)NIMA相关蛋白激酶7(NEK7)和Nod样受体蛋白3(NLRP3)小体表达的影响。【方法】将HUVECs随机分为空白对照组、模型组、阿托伐他汀组、黄芩苷组和黄芩血清组,按分组相应药物预处理细胞24 h,然后用1 μg/mL LPS刺激细胞24 h,再用5.5 mmol/L ATP刺激细胞4 h后检测各指标。四甲基偶氮唑盐(MTT)法检测细胞活力,均相竞争法测定细胞上清液中内皮素1(ET-1)的含量,硝酸还原酶法测定细胞上清液中总硝酸盐(NO_x)水平,蛋白免疫印迹法检测细胞内NEK7、NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白(ASC)、裂解型胱天蛋白酶1(cleaved-Caspase-1)、白细胞介素1β(IL-1β)蛋白的表达。【结果】与模型组比较,黄芩血清组、黄芩苷组、阿托伐他汀组LPS/ATP诱导的细胞活力升高,ET-1水平降低、NO_x水平升高,NEK7、NLRP3、ASC、cleaved-Caspase-1、IL-1β的蛋白表达水平降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),且黄芩血清组、黄芩苷组的作用效果优于阿托伐他汀组。【结论】黄芩和黄芩苷可以抑制LPS/ATP诱导HUVECs的NLRP3炎症小体激活引起的细胞焦亡而保护内皮,其机制可能与调控NEK7表达有关。

关键词:黄芩;黄芩苷;炎症小体;细胞焦亡;内皮细胞;NIMA相关蛋白激酶7

中图分类号:R285.5

文献标志码:A

文章编号:1007-3213(2021)03-0556-06

DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtc.2021.03.022

Radix Scutellariae Inhibits LPS/ATP-Induced NEK7 Expression and NLRP3 Inflammasome Activation in Endothelial Cells

WANG Xin-Dong^{1,2}, SUN Xue-Mei², QI Xiao-Xia³

(1. Affiliated Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210028 Jiangsu, China; 2. The Third Clinical Medical College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210028 Jiangsu, China; 3. Division of Science and Technology, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023 Jiangsu, China)

Abstract: **Objective** To observe the effects of Radix Scutellariae and baicalin on lipopolysaccharide (LPS)/adenosine triphosphate (ATP)-induced expression of NIMA-related kinase 7 (NEK7) and Nod-like receptor protein 3 (NLRP3) in human umbilical vein endothelial cells (HUVECs). **Methods** HUVECs were randomly divided into blank control group, model group, atorvastatin group, baicalin group and Radix Scutellariae-containing serum group. After pretreatment with corresponding drugs for 24 h, the cells were stimulated with LPS of 1 μg/mL for 24 h, followed by 5.5 mmol/mL of ATP for 4 h. Cell viability was detected by methyl-thiazolyl-tetrazolium (MTT) assay, content of endothelin 1 (ET-1) in cell supernatant was determined by homogeneous competition assay, levels of nitrite/nitrate (NO_x) in cell supernatant was determined by nitrate reductase assay, and expression of NEK7, NLRP3, apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD (ASC), cleaved-Caspase-1, interleukin 1β (IL-1β) proteins was detected by Western blotting assay. **Results** Compared with the model group, LPS/ATP-induced cell viability was increased in Radix Scutellariae-containing serum group, baicalin group and

收稿日期: 2020-05-20

作者简介: 王新东(1979-), 男, 博士, 副主任医师; E-mail: wangxindong@jsatcm.com

通讯作者: 祁晓霞, 女, 硕士, 助理研究员; E-mail: 150058@njucm.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 81973766, 81783274, 81403386); 全国中医药创新骨干人才项目(国中医药办人教2019-91); 江苏省中医局科技项目(编号: YB201922); 江苏省名老中医专家董其美传承工作室建设项目(苏中医科教2019-10)

atorvastatin group, and ET-1 content was decreased, NOx level was increased, and expression levels of NEK7, NLRP3, ASC, cleaved-Caspase-1, IL-1 β proteins were lowered ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** Radix Scutellariae and baicalin have effects on inhibiting pyroptosis resulted by LPS/ATP-induced activation of NLRP3 inflammasome in HUVECs and thus to protect endothelium, and the mechanism may be related with regulating and controlling NEK7 expression.

Keywords: Radix Scutellariae; baicalin; inflammasome; pyroptosis; endothelial cells

血管内皮损伤和功能紊乱是高血压、动脉粥样硬化(AS)等血管疾病的关键病理基础^[1]。炎症是内皮功能紊乱的重要原因和结果,抑制血管炎症对保持内皮功能、维持正常血压具有积极的意义^[2]。Nod样受体蛋白3(NLRP3)炎症小体是由胞内固有免疫受体NLRP3、接头蛋白凋亡相关斑点样蛋白(ASC)和胱天蛋白酶1(Caspase-1)作为核心组成的多蛋白复合物,该复合物组装能够诱导促炎因子白细胞介素(IL)-1 β 和IL-18等的成熟和分泌,从而促进炎症反应发生,进而引起细胞焦亡,导致细胞损伤^[3]。NLRP3炎症小体能够被高血糖、饱和脂肪酸、胆固醇结晶等各种异常代谢产物激活,在AS等疾病的发生中发挥重要作用^[4]。NEK7是新近鉴定出的NIMA相关蛋白激酶^[5],是NLRP3的上游调控因子,NEK7能够通过结合到LRR结构域上来调节NLRP3的信号^[6]。因此,NEK7/NLRP3炎症小体是上述疾病重要的候选干预靶点。

黄芩“味苦,性平,主诸热”(《神农本草经》),功可泄热燥湿、泻火解毒,在高血压、糖尿病、肥胖及炎症性疾病的中药治疗中有广泛的应用^[7]。黄芩苷是黄芩中一种亲脂类黄酮苷(log P = 1.27),具有抗炎、抗氧化、降脂等生物活性^[8-9],但黄芩和黄芩苷对内皮炎症的调控机制尚不明确。本研究观察了黄芩和黄芩苷对脂多糖(LPS)/三磷酸腺苷(ATP)诱导的人脐静脉内皮细胞(HUVECs)NEK7表达和NLRP3炎症小体激活的影响,现将研究结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 动物与细胞株 SPF级雄性Sprague-Dawley大鼠由南京中医药大学实验动物中心提供,动物质量合格证号:SYXK(苏)2016-0018。HUVECs购自美国模式培养物保藏所(American Type Culture

Collection, ATCC)。

1.2 药物、试剂与仪器 黄芩购于南京中医药大学附属中西医结合医院中药房;黄芩苷、LPS和ATP(美国Sigma公司);阿托伐他汀(美国Selleck公司)。四甲基偶氮唑盐(MTT)(美国Sigma公司);二甲基亚砜(DMSO)(凯基公司);内皮细胞培养基(ECM)(美国Gibco公司);胎牛血清(以色列BI公司);胰蛋白酶(美国Gibco公司);二喹啉甲酸(BCA)蛋白浓度检测试剂盒、放射免疫沉淀分析(RIPA)裂解液、电化学发光(ECL)试剂(碧云天公司);内皮素1(ET-1)和总硝酸盐(NO_x)试剂盒(江苏凯基公司);NEK7、NLRP3、ASC、cleaved-Caspase-1、IL-1 β 等抗体(美国Abcam公司)。ELX800型全自动酶标仪(美国Bio-Tek公司);Mini Protean-3电泳装置(美国Bio-Rad公司);HF160W型CO₂培养箱(上海力申科学仪器有限公司);倒置显微镜(日本Olympus公司);ChemiDoc XRS+型化学发光成像系统(美国Bio-Rad公司)。

1.3 黄芩含药血清的制备 取黄芩1 kg加入10倍量水共同煎煮2次,每次1 h,合并滤液,过滤,蒸馏制备成黄芩浸膏。取100 g黄芩浸膏加入到0.5%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)溶液中制备成200 mL混悬液。取SD雄性大鼠10只,按照2.5 g/kg剂量灌胃给药,连续7 d。第7天给药后1 h,以30 g/L戊巴比妥钠麻醉,腹主动脉取血,静置1 h。以3 000 r/min离心15 min,分离血清,于56 °C水浴灭活30 min,用0.22 μ m微孔滤膜过滤除菌,分装后于-80 °C冰箱保存备用。

1.4 细胞培养、分组与干预方法 以含体积分数1%内皮细胞生长补充剂、5%胎牛血清、1%青-链霉素的ECM培养基,于体积分数5% CO₂、37 °C的培养箱中培养HUVECs细胞,当细胞融合至80%以上时进行实验。实验分组:空白对照组(添加体积分数为15%的空白血清),模型组(1 μ g/mL LPS +

5.5 mmol/L ATP + 15%空白血清), 阿托伐他汀组(100 μ mol/L 阿托伐他汀 + 1 μ g/mL LPS + 5.5 mmol/L ATP), 黄芩苷组(200 μ mol/L 黄芩苷 + 1 μ g/mL LPS + 5.5 mmol/L ATP), 黄芩血清组(30%黄芩含药血清 + 1 μ g/mL LPS + 5.5 mmol/L ATP)。按分组相应药物预处理细胞 24 h, 然后用 1 μ g/mL LPS 刺激细胞 24 h, 再用 5.5 mmol/L ATP 刺激细胞 4 h 后, 进行下一步实验。

1.5 观察指标与方法

1.5.1 MTT法测定细胞活力 各组细胞每孔加入 5 mg/mL MTT 溶液 20 μ L, 37 $^{\circ}$ C 孵育 4 h, 吸弃上清液。加入 DMSO 溶液 150 μ L, 避光振荡 10 min, 应用酶标仪于 570 nm 波长处测定各孔吸光度(OD)值。按以下公式计算细胞增殖率: 细胞增殖率(%)=(OD_{实验组} - OD_{调零孔}) \div (OD_{空白组} - OD_{调零孔}) \times 100%。

1.5.2 测定 ET-1、NO_x 水平 收集细胞上清液。采用均相竞争法测定上清液中 ET-1 的含量。采用硝酸还原酶法, 测定上清液中 NO_x 的含量, 以 NO_x 含量表示 NO 浓度。均按照试剂盒说明书操作。

1.5.3 蛋白免疫印迹(Western Blot)法检测细胞 NLRP3、ASC、cleaved-Caspase-1、IL-1 β 和 NEK7 蛋白表达 细胞经药物刺激处理结束后, 用磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤细胞 3 次, 加入 RIPA 裂解液充分裂解细胞, 细胞刮收集细胞碎片并离心, 用 BCA 蛋白定量试剂盒检测蛋白质浓度。稀释后的样品加入上样缓冲液, 100 $^{\circ}$ C 煮沸蛋白变性。100 V 恒压十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离蛋白质, 4 $^{\circ}$ C 条件下电转移至硝酸纤维素膜。加入 70 g/L 的脱脂奶粉置于摇床上室温孵育, 封闭 1 h。TBST 摇床洗涤 5 min \times 3 次。分别加入 NLRP3、ASC、cleaved-Caspase-1、IL-1 β 和 NEK7 等一抗(稀释比例为 1:5 000), 置摇床上室温孵育 1 h, 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。加入二抗, 室温孵育 2 h, TBST 摇床洗涤 5 min \times 3 次。加入 ECL 试剂显色, 用扫描仪暗室内扫描。以 GAPDH 为内参, 用 ImageJ 软件对电泳条带进行灰度分析。

1.6 统计方法 应用 SPSS 21.0 统计软件进行数据分析, 计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 多组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA), 进一步两两比较采用 LSD-*t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 黄芩和黄芩苷对 LPS/ATP 诱导的 HUVECs 活力的影响 表 1 结果显示: 与空白对照组比较, 模型组的细胞增殖率明显下降($P < 0.01$); 与模型组比较, 黄芩苷组、黄芩血清组、阿托伐他汀组细胞增殖率明显升高, 差异均有统计学意义($P < 0.01$); 黄芩苷组和黄芩血清组细胞增殖率高于阿托伐他汀组, 但差异无统计学意义($P > 0.05$)。表明 3 种药物干预均可抑制 LPS/ATP 诱导的细胞活力降低, 且黄芩苷和黄芩的作用有优于阿托伐他汀的趋势。

表 1 黄芩和黄芩苷对 LPS/ATP 诱导的人脐静脉内皮细胞(HUVECs)活力的影响

Table 1 Effects of Radix Scutellariae and baicalin on LPS/ATP-induced HUVECs viability ($\bar{x} \pm s$)

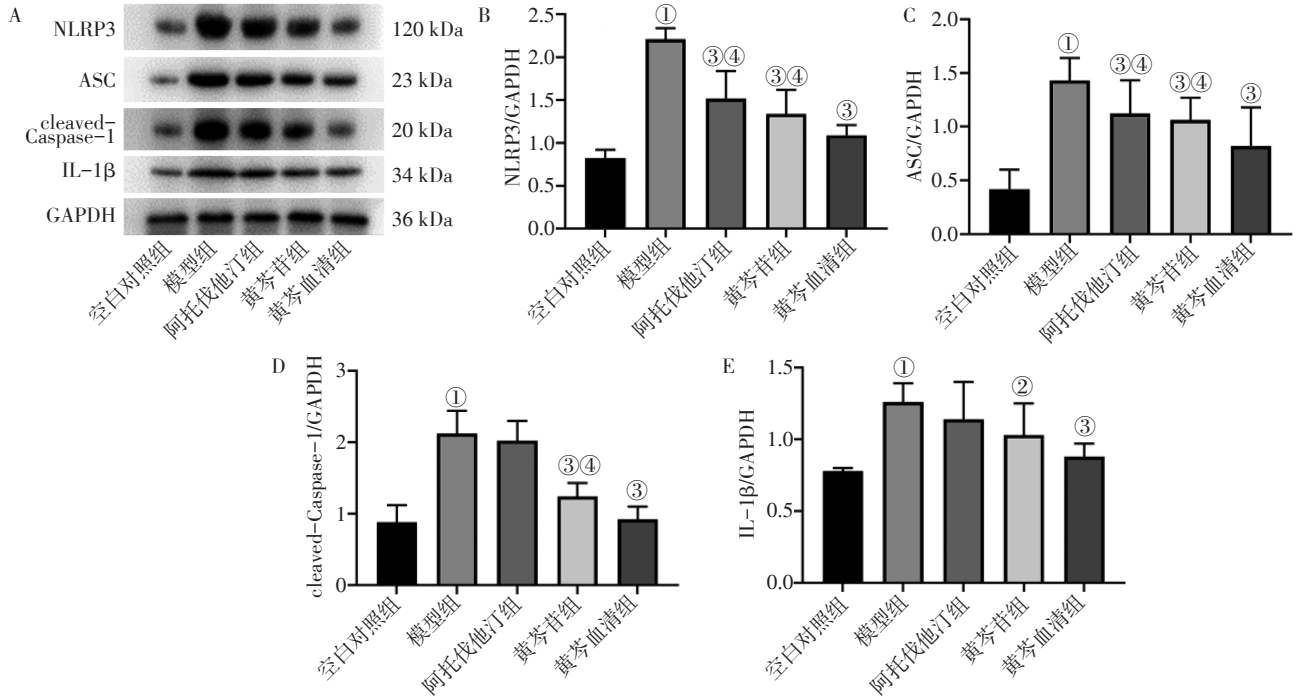
组别	OD(570 nm)	细胞增殖率(%)
空白对照组	0.669 \pm 0.009	100.00 \pm 0.80
模型组	0.207 \pm 0.045 ^①	32.21 \pm 1.52 ^①
阿托伐他汀组	0.286 \pm 0.028 ^②	45.91 \pm 2.07 ^②
黄芩苷组	0.309 \pm 0.021 ^②	48.97 \pm 2.71 ^②
黄芩血清组	0.317 \pm 0.002 ^②	49.20 \pm 1.08 ^②

① $P < 0.01$, 与空白对照组比较; ② $P < 0.01$, 与模型组比较

2.2 黄芩和黄芩苷抑制 LPS/ATP 诱导 HUVECs 的 NLRP3 炎症小体活化 图 1 结果显示: 与空白对照组比较, 模型组的 NLRP3、ASC、cleaved-Caspase-1、IL-1 β 表达水平明显增加($P < 0.01$)。与模型组比较, 黄芩苷组和黄芩血清组的 NLRP3、ASC、cleaved-Caspase-1、IL-1 β 表达水平均降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 阿托伐他汀组的 NLRP3 和 ASC 表达水平降低($P < 0.01$)。黄芩血清组 NLRP3、ASC、cleaved-Caspase-1 表达水平低于阿托伐他汀组和黄芩苷组($P < 0.01$)。表明黄芩可抑制 LPS/ATP 诱导的 HUVECs 的 NLRP3 炎症小体活化, 且作用明显优于阿托伐他汀和黄芩苷。

2.3 黄芩和黄芩苷抑制 LPS/ATP 诱导 HUVECs 的 NEK7 表达 图 2 结果显示: 与空白对照组比较, 模型组的 NEK7 表达水平明显增加($P < 0.01$); 与模型组比较, 黄芩血清组和黄芩苷组的 NEK7 表达水平明显降低($P < 0.01$)。

2.4 黄芩和黄芩苷对 HUVECs 分泌功能的影响 表 2 结果显示: 与空白对照组比较, 模型组的 ET-1 水

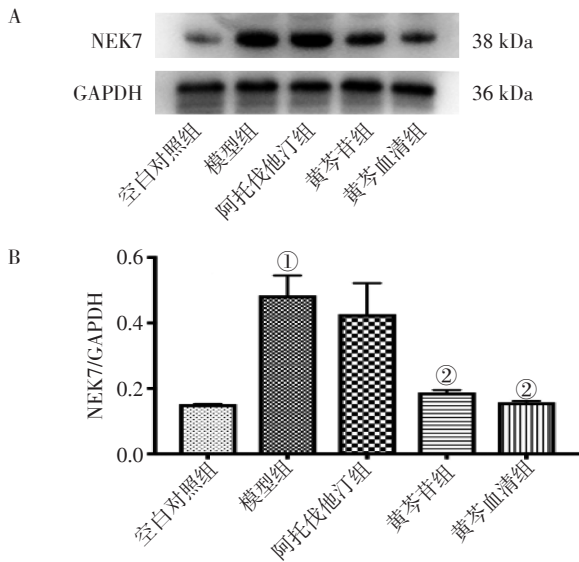


A: NLRP3、ASC、cleaved-Caspase-1、IL-1 β 蛋白 Western Blot 电泳条带; B ~ E: NLRP3、ASC、cleaved-Caspase-1、IL-1 β 蛋白相对表达量($\bar{x} \pm s$)

① $P < 0.01$, 与空白对照组比较; ② $P < 0.05$, ③ $P < 0.01$, 与模型组比较; ④ $P < 0.01$, 与黄芩血清组比较

图1 各组人脐静脉内皮细胞(HUVECs)中NLRP3、ASC、cleaved-Caspase-1、IL-1 β 蛋白表达水平比较

Figure 1 Comparison of the expression levels of NLRP3, ASC, cleaved-Caspase-1, IL-1 β in HUVECs of various groups



A: NEK7 蛋白的 Western Blot 电泳条带; B: NEK7 相对表达量($\bar{x} \pm s$)

① $P < 0.05$, 与空白对照组比较; ② $P < 0.01$, 与模型组比较

图2 各组人脐静脉内皮细胞(HUVECs)中NEK7 蛋白表达水平比较

Figure 2 Comparison of the expression level of NEK7 in HUVECs of various groups

平明显升高、NO_x水平明显降低($P < 0.01$); 与模型组比较, 黄芩苷组、黄芩血清组、阿托伐他汀组的ET-1水平明显降低、NO_x水平明显升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 且黄芩苷组、黄芩血清组对ET-1的降低作用、对NO_x的升高作用优于阿托伐他汀组。结果表明3种药物干预可改善HUVECs的分泌功能紊乱, 且黄芩苷和黄芩对HUVECs分泌功能的改善作用优于阿托伐他汀。

表2 黄芩和黄芩苷对人脐静脉内皮细胞(HUVECs)分泌ET-1和NO_x的影响

Table 2 Effects of Radix Scutellariae and baicalin on secretion of ET-1 and NO_x from HUVECs ($\bar{x} \pm s$)

组别	ET-1($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	NO _x ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)
空白对照组	257.87 \pm 11.71	630.52 \pm 19.81
模型组	347.53 \pm 22.46 ^①	584.73 \pm 11.61 ^①
阿托伐他汀组	320.18 \pm 41.08 ^②	610.52 \pm 19.81 ^②
黄芩苷组	294.52 \pm 20.09 ^{③④}	621.02 \pm 12.46 ^{②④}
黄芩血清组	289.71 \pm 10.03 ^{③④}	613.44 \pm 22.40 ^②

① $P < 0.01$, 与空白对照组比较; ② $P < 0.05$, ③ $P < 0.01$, 与模型组比较; ④ $P < 0.05$, 与阿托伐他汀组比较

3 讨论

血管内皮细胞不仅是血管的屏障,同时具有传递血管信息和分泌血管活性物质的内分泌属性^[10]。内皮功能失调在动脉粥样硬化(AS)病理进程中发挥着关键的作用。AS是血管炎性疾病,细胞焦亡作为促炎性的程序性细胞死亡,与AS关系紧密^[11]。对于炎症,中医学多从火、热来认识,黄芩是清热泻火的代表中药,在高血压、糖尿病、肥胖和AS的治疗中有广泛的应用。现代研究表明,黄芩根中含有38种黄酮类成分,其中黄芩苷、黄芩素、汉黄芩苷、汉黄芩素、黄芩新素最为主要。抗炎是黄芩最重要的药理作用^[12]。本研究聚焦NEK7/NLRP3炎症小体,探讨了黄芩和主要黄酮成分黄芩苷的抗炎效应是否与作用于其靶点有关。

血管内皮细胞可分泌多种细胞因子和炎症介质,ET-1和NO分别是由内皮细胞分泌的缩血管因子和舒血管因子,是内皮细胞内分泌功能的主要体现。本研究结果可见,LPS/ATP可刺激缩血管因子ET-1的分泌而抑制舒血管因子NO的分泌,从而诱导内皮分泌功能的紊乱,黄芩和黄芩苷可拮抗LPS/ATP对ET-1和NO的负向诱导作用,抑制LPS诱导的内皮分泌功能紊乱,且这种对内皮的保护性效应优于阿托伐他汀。

NLRP3炎症小体的激活与AS的炎性进程密切相关。本研究结果可见,LPS/ATP可诱导NLRP3、ASC、cleaved-Caspase-1、IL-1 β 的表达水平明显增加,黄芩和黄芩苷可明显抑制LPS/ATP诱导的NLRP3、ASC、cleaved-Caspase-1、IL-1 β 的表达,优于传统的抗AS炎症药物阿托伐他汀组,并且黄芩对LPS/ATP诱导的抑制效应优于黄芩苷,提示黄芩多组分的抗炎效应不仅仅局限于其中的黄芩苷。研究发现:NO能抑制NLRP3炎症小体的激活,腹腔巨噬细胞在外加NO的情况下,各种刺激剂如LPS和ATP、Nigericin以及MSU刺激Caspase-1的活化和IL-1 β 的释放受到明显抑制;NO通过稳定线粒体,抑制活性氧簇(ROS)的产生从而抑制NLRP3的激活^[13]。提示黄芩和黄芩苷抑制NLRP3的激活可能与升高NO水平有关。

NEK7参与了炎症小体蛋白复合体的聚集过程,NEK7的缺失能够特异性阻断NLRP3炎症小体的激活以及IL-1 β 的释放^[14]。已经证明,NEK7参

与人类或动物模型中的许多NLRP3相关疾病^[15]。专注于NEK7的抑制剂可以调节NLRP3以消除炎症反应,并且NEK7可能是NLRP3相关疾病的潜在治疗靶标。本研究结果显示,黄芩和黄芩苷均能明显地抑制LPS/ATP诱导的NEK7表达,提示黄芩和黄芩苷抑制NLRP3炎症体的激活可能是通过抑制NEK7的途径,显示黄芩和黄芩苷是一种NEK7抑制剂。

综上所述,黄芩和黄芩苷可以通过抑制NEK7表达和NLRP3炎症小体活化的途径减少细胞焦亡发生,同时可抑制缩血管因子ET-1、增加舒血管因子NO的分泌,从而发挥保护血管内皮、调节内皮功能的效应。表明黄芩和黄芩苷作为NEK7和NLRP3炎症小体阻断剂,在AS和高血压的治疗中具有光明前景,可为深入研究黄芩的药效物质基础提供新的思路。

参考文献:

- [1] CABRERA-REGO J O, NAVARRO-DESPAIGNE D, STAROUSHIK-MOREL L, et al. Association between endothelial dysfunction, epicardial fat and subclinical atherosclerosis during menopause[J]. Clin Investig Arterioscler, 2018, 30(1): 21-27.
- [2] CHRISTINA C, NATASA K, DIMITRIS T. The link between depression and atherosclerosis through the pathways of inflammation and endothelium dysfunction[J]. Maturitas, 2018, 109: 1-5.
- [3] YANHUI D, NATHAN K, YUAN H. Role of the NLRP3 inflammasome in neurodegenerative diseases and therapeutic implications [J]. Neural Regen Res, 2020, 15(7): 1249-1250.
- [4] LIU Y, LI C, YIN H, et al. NLRP3 Inflammasome: a potential alternative therapy target for atherosclerosis [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2020, 35(27): 1782-1791.
- [5] HE Y, ZENG MY, YANG D, et al. NEK7 is an essential mediator of NLRP3 activation downstream of potassium efflux [J]. Nature, 2016, 530(7590): 354-357.
- [6] SHARIF H, WANG L, WANG W L, et al. Structural mechanism for NEK7-licensed activation of NLRP3 inflammasome[J]. Nature, 2019, 570(7761): 338-343.
- [7] 王津燕. 中药黄芩药理作用的研究进展[J]. 内蒙古中医药, 2020, 39(2): 167-168.
- [8] LI S, SUN X, XU L, et al. Baicalin attenuates *in vivo* and *in vitro* hyperglycemia-exacerbated ischemia/reperfusion injury by regulating mitochondrial function in a manner dependent on AMPK [J]. Eur J Pharmacol, 2017, 815: 118-126.
- [9] DAI J, LIANG K, ZHAO S, et al. Chemoproteomics reveals baicalin activates hepatic CPT1 to ameliorate diet-induced obesity and hepatic steatosis[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2018, 115(26): E5896-E5905.

- [10] GREVEN J, PFEIFER R, ZHI Q, et al. Update on the role of endothelial cells in trauma [J]. *Eur J Trauma Emerg Surg*, 2018, 44(5): 667-677.
- [11] XU Y, ZHENG L, HU Y, et al. Pyroptosis and its relationship to atherosclerosis[J]. *Clin Chim Acta*, 2018, 476: 28-37.
- [12] ADAM T, BURSZEJN A, SCHMUTZ J. Facial eczema from a sunscreen: scutellaria baicalensis, a novel allergen beginning to attract attention[J]. *Contact Dermatitis*, 2020, 82(4): 253-254.
- [13] MAO K, CHEN S, CHEN M, et al. Nitric oxide suppresses NLRP3 inflammasome activation and protects against LPS-induced septic shock[J]. *Cell Res*, 2013, 23(2): 201-212.
- [14] SHI H, WANG Y, LI X, et al. NLRP3 activation and mitosis are mutually exclusive events coordinated by NEK7, a new inflammasome component [J]. *Nat Immunol*, 2016, 17(3): 250-258.
- [15] JIN X, LIQUN L, LANFANG L. NEK7: a novel promising therapy target for NLRP3-related inflammatory diseases[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2016, 48(10): 966-968.
- 【责任编辑：侯丽颖】

基于“动则生阳”理论探讨有氧运动对阳虚证慢性心力衰竭模型大鼠的作用和机制

许禄华^{1,2}, 周旭^{1,2}, 蒋峰¹, 宋银枝¹, 曾志聪¹, 张小朵¹, 魏山寅¹, 林丰夏¹

[1. 广州中医药大学附属宝安中医院, 深圳市宝安中医院(集团), 广东深圳 518133;

2. 广州中医药大学研究生院, 广东广州 510405]

摘要:【目的】基于“动则生阳”中医理论, 探究有氧运动(AE)对阳虚证慢性心力衰竭(CHF)模型大鼠的作用和机制。【方法】采用腹主动脉缩窄术(AAC)建立CHF大鼠模型, AAC结合冷刺激(CS)法建立阳虚证CHF大鼠模型。将健康SD大鼠50只分为假手术组、安静组(Calm组)和运动组(AE组), 其中Calm组包括心力衰竭安静组(AAC+Calm组)和阳虚心力衰竭安静组(AAC+CS+Calm组), AE组包括心力衰竭运动组(AAC+AE组)和阳虚心力衰竭运动组(AAC+CS+AE组), 分别对应处理。运动/安静干预8周后, 使用中医阳虚证候积分表评估阳虚程度, 应用超声、称质量和苏木素-伊红(HE)染色等方法评估心室重构和心功能水平, 蛋白免疫印迹法检测心肌组织自噬相关蛋白微管相关蛋白1轻链3B(LC3B)、p62、Beclin-1表达。【结果】与假手术组比较, Calm组大鼠阳虚证候积分, 左心室舒张末期厚度(LVEDd)、左心室收缩末期厚度(LVESd)、心脏质量/体质量比值(HW/BW)、左心室质量/体质量比值(LVW/BW), Beclin-1表达水平和LC3B-II/LC3B-I比值升高, 左心室射血分数(EF)值和p62表达水平降低(均 $P < 0.01$), HE染色结果显示心室重构, 可见心肌细胞呈不同程度的排列紊乱, 心肌肥大, 细胞核肿胀; 而与AAC+Calm组比较, AAC+CS+Calm组大鼠的上述变化程度更明显(均 $P < 0.01$)。与Calm组比较, AE组能明显拮抗上述变化(均 $P < 0.01$)。【结论】CHF大鼠的阳虚程度与其心室重构程度、心功能恶化程度密切相关, 有氧运动能有效纠正CHF大鼠的阳虚状态, 并拮抗CHF导致的心室重构和心功能恶化, 其机制可能与调节心肌细胞自噬相关。

关键词: 有氧运动; 心力衰竭; 阳虚证; 心室重构; 自噬; 大鼠

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-3213(2021)03-0561-09

DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2021.03.023

收稿日期: 2020-07-17

作者简介: 许禄华(1994-), 男, 硕士研究生, 住院医师; E-mail: 619347785@qq.com

通讯作者: 林丰夏(1989-), 男, 硕士, 主治医师; E-mail: szlinfx@163.com

基金项目: 国家中医药管理局科研项目(编号: 2019 GZY-FJS-2019-004); 深圳市宝安区科技计划项目(编号: 2017JD146)