

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.01.004

人参皂苷 Rb1 通过上调 PGC-1 α 缓解糖尿病心肌病 *亓秉超¹ 胡 朗¹ 邱继欢¹ 李春雨¹ 季乐乐² 李 妍^{1Δ}

(1 空军军医大学西京医院心内科 陕西 西安 710000; 2 空军军医大学基础医学院教学实验中心 陕西 西安 710000)

摘要 目的: 研究人参皂苷 Rb1 对糖尿病心肌病的治疗作用并阐明其分子机制。**方法:** 采用腹腔注射链脲佐菌素的方法, 建立糖尿病心肌病动物模型。将小鼠分为 3 组: WT 组, DM 组, DM+Rb1 组。超声心动图分析小鼠心功能; Western blot 分析 PGC-1 α 、cleaved caspase-3、bcl-2 等蛋白表达; MitoSOX 染色分析线粒体 ROS 含量; 透射电镜分析线粒体数目。**结果:** 与 WT 组相比, DM 组小鼠心功能显著下降(LVEF, $P < 0.01$), PGC-1 α 表达下调($P < 0.01$), 线粒体数目减少($P < 0.01$); 而 Rb1 处理后, 显著改善了 DM 小鼠心功能(LVEF, $P < 0.01$), 恢复了 PGC-1 α 表达($P < 0.05$), 增加了线粒体数目($P < 0.05$)。同时, Rb1 处理后, 减少了糖尿病小鼠心肌线粒体 ROS 产生($P < 0.01$), 恢复了 bcl-2 蛋白表达($P < 0.01$), 降低了 cleaved caspase-3 蛋白表达($P < 0.01$), 从而减少了高糖引起的细胞凋亡($P < 0.05$)。而 siPGC-1 α 处理后, 阻断了 Rb1 的上述作用。**结论:** 人参皂苷 Rb1 通过上调 PGC-1 α 改善糖尿病小鼠心功能, 缓解糖尿病心肌病。其机制可能与人参皂苷 Rb1 降低心肌线粒体 ROS 产生并减少心肌细胞凋亡有关。

关键词: 人参皂苷 Rb1; 糖尿病心肌病; PGC-1 α ; 线粒体 ROS

中图分类号: R-33; R542.2; R587.2 文献标识码: A 文章编号: 1673-6273(2020)01-19-05

Ginsenoside Rb1 Alleviates Diabetic Cardiomyopathy through Up-regulating PGC-1 α *QI Bing-chao¹, HU Lang¹, QIU Ji-huan¹, LI Chun-yu¹, JI Le-le², LI Yan^{1Δ}

(1 Department of Cardiology, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710000, China;

2 Experimental Teaching Center of Basic Medicine, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710000, China)

ABSTRACT Objective: To study the therapeutic effect of ginsenoside Rb1 on diabetic cardiomyopathy and to elucidate its molecular mechanism. **Methods:** An animal model of diabetic cardiomyopathy was established by intraperitoneal injection of streptozotocin. Mice were divided into 3 groups: WT group, DM group and DM+Rb1 group. Cardiac function of mice was analyzed by echocardiography. Expression of PGC-1 α , cleaved caspase-3 and bcl-2 was analyzed by Western blot. Mitochondrial ROS content was analyzed by MitoSOX staining. The number of mitochondria was analyzed by electron microscopy. **Results:** Compared with the WT group, the cardiac function of the DM group was significantly decreased (LVEF, $P < 0.01$). Expression of PGC-1 α was down-regulated ($P < 0.01$). The number of mitochondria was decreased ($P < 0.01$). After Rb1 treatment, the cardiac function of DM mice was significantly improved (LVEF, $P < 0.01$). PGC-1 α expression was restored ($P < 0.05$). The number of mitochondria was increased ($P < 0.05$). At the same time, Rb1 treatment reduced myocardial mitochondrial ROS production ($P < 0.01$), restored bcl-2 protein expression ($P < 0.01$), decreased cleaved caspase-3 protein expression ($P < 0.01$), and decreased Apoptosis induced by high glucose ($P < 0.05$). After treatment with siPGC-1 α , the above protective effects of Rb1 were blocked. **Conclusions:** Ginsenoside Rb1 improves cardiac function and alleviates diabetic cardiomyopathy by up-regulating PGC-1 α . The mechanism may be related to the reduction of myocardial mitochondrial ROS production and reduction of cardiomyocyte apoptosis by ginsenoside Rb1.

Key words: Ginsenoside Rb1; Diabetic cardiomyopathy; PGC-1 α ; Mitochondrial ROS

Chinese Library Classification (CLC): R-33; R542.2; R587.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)01-19-05

前言

国际糖尿病联盟公布的《2017 年世界糖尿病地图》^[1]显示, 中国糖尿病患病率居世界前列, 约占 10%。糖尿病患病人数居世界第一位, 约 1.14 亿。在糖尿病的众多并发症中, 糖尿病心肌病是糖尿病患者高死亡率的主要原因之一^[2]。最近的流行病

学研究报告, 一般人群中糖尿病性心肌病的患病率为 1.1%, 糖尿病患者为 16.9%。此外, 该研究显示糖尿病性心脏病患者死亡率或心力衰竭发生率为高达 31%^[3]。然而, 目前针对糖尿病心肌病尚无特效药。人参皂苷 Rb1 是人参的主要药理成分之一, 属于二萜型皂苷。有研究表明, 人参皂苷 Rb1 在保护心肌缺血再灌注损伤、增强动脉粥样硬化斑块稳定性、延缓内皮细胞

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81570252); 国家自然科学基金项目(81770369)

作者简介: 亓秉超(1993-), 男, 硕士研究生, 主要研究方向: 糖尿病心肌线粒体形态与功能, E-mail: 1040132671@qq.com

Δ 通讯作者: 李妍(1974-), 女, 博士, 主任医师, 主要研究方向: 冠心病基础与临床, E-mail: 307712565@qq.com

(收稿日期: 2019-06-27 接受日期: 2019-07-29)

衰老、调节脑血管通透性等方面具有重要作用^[47]。但是,人参皂苷 Rb1 在糖尿病心肌病中是否具有保护作用以及具体分子机制尚无文献报道。因此,本研究以糖尿病小鼠为模型,探究人参皂苷 Rb1 对糖尿病心肌病的保护作用以及作用机制,旨在为糖尿病心肌病防治提供新思路。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 SPF 级成年雄性 C57 小鼠(8 周龄,20-25 g)由第四军医大学动物中心提供。饲养于第四军医大学动物实验中心,在昼夜(12 小时/12 小时)光照交替条件下饲养,并给予自由饮食。

1.1.2 药物 人参皂苷 Rb1 (货号:00170580),链脲佐菌素(streptozotocin,STZ,货号:S0130)均购自美国 sigma 公司。-20℃ 保存,使用前人参皂苷 Rb1 溶解于 0.9% 生理盐水中,STZ 溶解于 0.1% 柠檬酸缓冲液中。

1.1.3 试剂与仪器 PGC-1 α 抗体、bcl-2 抗体、cleaved caspase-3 抗体均购自美国 Abcam 公司。 β -actin 抗体、羊抗兔二抗均购自中国天德悦公司。胎牛血清购自美国 Gibco 公司,低糖培养基、高糖培养基购自美国 Hyclone 公司。BCA 检测试剂盒、RIPA 裂解液、凋亡检测试剂盒均购自中国碧云天公司。Trizol 试剂、MitoSOX 试剂、RNAiMAX 转染试剂购自美国 invitrogen 公司。麻醉剂异氟烷购自中国河北一品公司。共聚焦显微镜购自日本 Olympus 公司。小动物超声系统 Vevo2100 购自加拿大 Visual Sonics 公司,凝胶成像系统购自美国 Bio-Rad 公司,PCR 仪购自美国 Thermo 公司。

1.2 方法

1.2.1 实验分组与糖尿病小鼠模型构建 将小鼠分为 WT 组、DM 组和 DM+Rb1 组,每组 6-8 只。造模前,小鼠禁食 12 小时。按 50 mg/Kg 体重称取一定质量 STZ 粉末溶于柠檬酸缓冲液中,避光配置,置于冰上。腹腔注射,对照组给予柠檬酸缓冲液注射。注射完毕后给予正常饮食,连续注射 5 天。最后一次注射 3 天后检测血糖,随机血糖 >16.7 mmol/L 即为造模成功,正常喂养 3 个月。对于 DM+Rb1 组小鼠,在糖尿病小鼠造模成功后,按照 50 mg/kg 的剂量,称取一定量人参皂苷 Rb1 溶于生理盐水中,每天灌胃给药,连续给药 4 周。再连续喂养 2 个月。

1.2.2 蛋白提取及 Western-blot 检测 取 20-50 mg 心脏组织,预冷 PBS 冲洗 3 次,加入适量裂解液,用组织研磨仪匀浆,冰上静置 10-20 分钟,12000 $\times$ g 离心 15 分钟,取上清,BCA 法测蛋白浓度。调整蛋白浓度后,按比例加入上样缓冲液,100℃ 煮 10 分钟,然后进行电泳、转膜、封闭等操作。一抗孵育,4℃ 过夜,TBST 清洗三次,二抗室温孵育 1 小时,TBST 清洗 3 次。利用凝胶成像系统化学发光法检测目的条带。

1.2.3 小鼠心脏超声 使用 Vevo 2100 超声系统进行心脏的无创超声检查。将小鼠固定于操作台,用异氟烷轻度麻醉小鼠(诱导 3%,维持 1%)。小鼠心脏功能通过手持式超声换能器操作来获取超声图像。所有的超声心动图图像使用 Vevo 2100 软件进行分析。

1.2.4 原代心肌细胞分离与培养 取生后 1-3 天的 SD 大鼠的乳鼠,用 75% 乙醇消毒皮肤 10-15 分钟,在胸前处剪开皮肤,挤

出心脏。剪下心室部分置于含 PBS 的平皿中。用 PBS 溶液冲洗 4-5 次,去除残留积血后,将心脏剪成小碎片,再将心脏碎片转移至小玻璃瓶中。加 5 mL 左右胶原酶,37℃ 消化 5 min,吸取上清中已消化好的细胞加入到含完全培养基的离心管中,混匀,终止消化。在剩下的细胞碎片中再加入 3 mL 胶原酶溶液,重复消化 4-5 次。每次消化结束后,均需将上清吸到上述离心管中,至不能消化为止。1000 rpm 离心 5 min,弃上清,加 4 mL 新鲜的含血清和的 DMEM 于新的离心管中。吹打离心管中细胞,至细胞均匀悬浮。将 200 目筛网置于高压灭菌后的烧杯上,用滴管吸取细胞悬液,加到筛网上过滤,以除去未消化的组织块,只让单个细胞过滤到烧杯中。将烧杯中的细胞溶液转移到培养瓶中,做好标记。置于孵箱中静置 1.5-2 小时。利用差速贴壁法除去成纤维细胞。将心肌细胞转移至新的培养瓶。细胞计数,补充培养基,37℃ 孵箱静置 48 小时后,分别用低糖培养基(5.5 mmol/L)和高糖培养基(30 mmol/L)培养细胞。处理组人参皂苷 Rb1 浓度为 40 μ mol/L。

1.2.5 用 siRNA 转染心肌细胞 PGC-1 α siRNA 由上海吉玛基因公司合成。siRNA-PGC-1 α :5'-GACGAAGCAGACAA-GACCGGU-3',siRNA-Ctrl:5'-UUCUCCGAACGUGUCACG-3',用 RNAiMAX 转染试剂使 siRNA 进入细胞,6 小时后换液,再继续培养 48 小时。

1.2.6 细胞凋亡测定 按照碧云天试剂盒说明书(Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒)操作。胰酶消化收集细胞,Annexin V-FITC 结合液重悬细胞,加入 5 μ L Annexin V-FITC,混匀。加入 10 μ L 碘化丙啶染色液,混匀。冰上静置 10 分钟后,利用流式细胞仪检测细胞凋亡。

1.2.7 线粒体 ROS 检测 根据说明书的方案,使用荧光探针 MitoSOX 检测线粒体 ROS。通过激光共聚焦显微镜(FluoView FV1000)和 ImagePro 图像分析软件分析图像。

1.2.8 透射电镜观察心肌线粒体数量 心肌组织切成 1 $\times$ 1 $\times$ 2 mm³ 组织块,在含 2.5% 戊二醛二甲砷酸盐缓冲液(0.1 mol/L)固定过夜(pH 7.4,4℃),1% 四氧化锇室温后固定 1 h,2% 乙酸双氧铀染色,50%-100% 梯度酒精脱水,环氧树脂包埋。组织超薄切片后,用 2% 乙酸双氧铀和柠檬酸铅进行双染,透射电子显微镜观察并拍照。

1.2.9 荧光定量 PCR 检测 取新鲜或冻存的小鼠心肌 20-50 mg,使用 Trizol 法提取总 RNA,按反转录试剂盒操作将 RNA 反转录为 cDNA,在 PCR 仪上进行扩增。PGC-1 α 上游引物 5'-TATGGAGTGACATAGAGTGTGCT-3',下游引物 5'-GTCGCTACACCACTTCAATCC-3'。

1.3 统计学分析

所有数据均以 n 次独立实验的平均值 $\pm$ 标准差表示。t 检验用于两组之间的比较,单因素方差分析用于三组之间的比较。使用 GraphPad Prism 7.0 进行统计分析和作图。 $P<0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 人参皂苷 Rb1 改善糖尿病小鼠心功能

与对照组小鼠相比,糖尿病组小鼠左室射血分数和左室短轴缩短率显著降低(40.10 $\pm$ 4.56% vs 72.93 $\pm$ 6.22%, $P<0.01$;

21.06±2.69 % vs 40.04±2.86 %, $P<0.01$); 左室前壁厚度收缩期和舒张期都显著增厚(3.22±0.18 mm vs 1.60±0.18 mm, $P<0.01$; 4.29±0.25 mm vs 3.50±0.23 mm, $P<0.01$)。而与糖尿病组相比, 人参皂苷 Rb1 处理的糖尿病小鼠心功能明显改善, 人参皂苷 Rb1 处理组小鼠左室射血分数和短轴缩短率显著提高(60.80±8.16 % vs 40.10±4.56 %, $P<0.01$; 32.59±3.83 % vs 21.06±2.69 %, $P<0.01$); 并且左室前壁厚度在收缩期和舒张期都显著降低(2.40±0.27 mm vs 3.22±0.18 mm, $P<0.01$; 3.63±0.43 mm vs 4.29±0.25 mm, $P<0.05$), 见图 1。从小鼠心功能指标可以看出, 人参皂苷 Rb1 可显著改善糖尿病小鼠心功能, 缓解糖尿病心脏病。

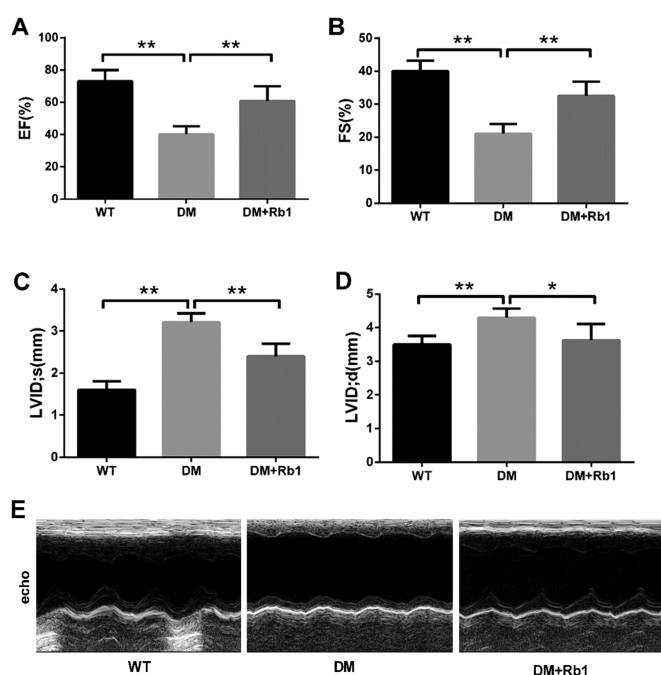


图 1 超声心动图分析各组小鼠心功能

Fig.1 Echocardiographic analysis of cardiac function in each group

Note: Data are expressed as $\bar{x} \pm SD$, $n=6-8$. *: $P<0.05$, **: $P<0.01$.

2.2 人参皂苷 Rb1 恢复糖尿病心肌 PGC-1 α 的表达并增加心肌线粒体数量

与对照组相比, 无论在蛋白水平还是 mRNA 水平, 糖尿病组小鼠心脏 PGC-1 α 表达显著下降($P<0.01$), 而给予人参皂苷 Rb1 处理后, PGC-1 α 表达明显提高($P<0.05$), 如图 2A, 2B。已经明确 PGC-1 α 与线粒体生物发生呈显著正相关^[8]。因此, 课题组在透射电镜下观察各组小鼠心肌线粒体, 统计单位面积下的线粒体数目发现, 与对照组小鼠比较, 糖尿病组小鼠心肌线粒体数目显著降低($P<0.01$), 线粒体体积变大, 而给予人参皂苷 Rb1 处理后, 线粒体数目明显增多($P<0.05$), 但还是没有恢复到对照组水平, 如图 2C, 2D。

2.3 人参皂苷 Rb1 通过降低线粒体 ROS 减少心肌细胞凋亡

有研究表明 PGC-1 α 表达降低, 线粒体数目减少会导致细胞内活性氧(Reactive Oxygen Species, ROS)增多, 引起细胞凋亡增加^[9]。为进一步探究其发生机制, 我们下一步实验验证了凋亡相关蛋白和 ROS 相关指标。Western Blot 结果显示, 与对照组相比, 糖尿病组小鼠心肌凋亡相关蛋白 cleaved caspase-3 表

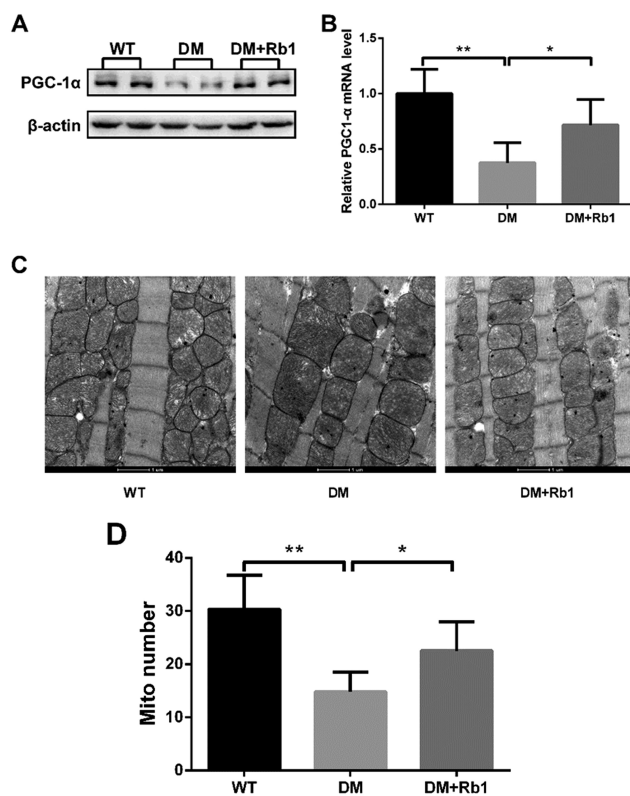


图 2 各组小鼠心肌 PGC-1 α 表达情况和线粒体数目分析

Fig.2 Analysis of myocardial PGC-1 α expression and mitochondrial number in each group

Note: Data are expressed as $\bar{x} \pm SD$, $n=6-8$. *: $P<0.05$, **: $P<0.01$.

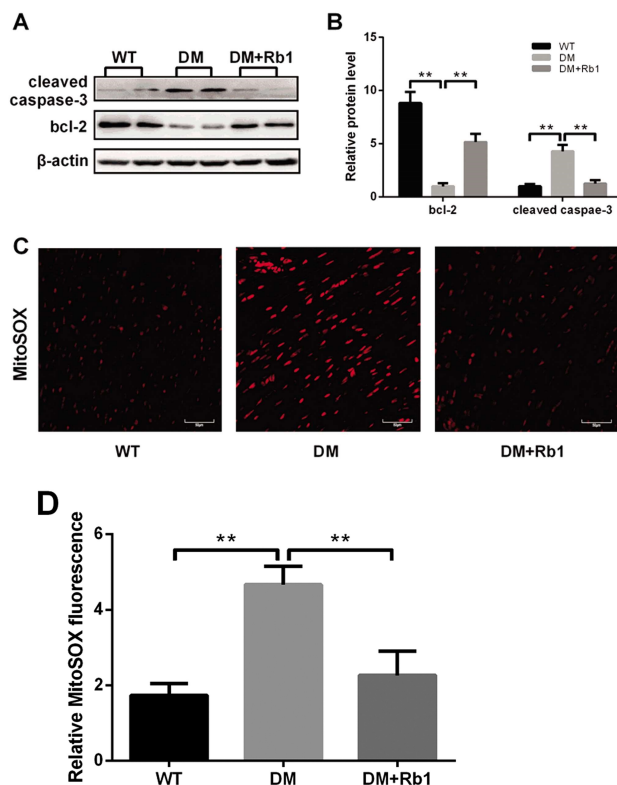


图 3 检测各组小鼠心肌细胞凋亡水平和线粒体 ROS 水平

Fig.3 Detection of cardiomyocyte apoptosis and mitochondrial ROS levels in each group

Note: Data are expressed as $\bar{x} \pm SD$, $n=6-8$. *: $P<0.05$, **: $P<0.01$.

达升高($P<0.01$),而人参皂苷 Rb1 处理组小鼠则降低到正常水平($P<0.01$);而与对照组小鼠相比,抗凋亡蛋白 bcl-2 在糖尿病小鼠心肌内表达下调($P<0.01$),人参皂苷 Rb1 处理后显著上调($P<0.01$),但未能恢复到正常水平,如图 3A,3B。另外,用荧光染料 MitoSOX 染线粒体内的 ROS 发现,与对照组相比,糖尿病组小鼠线粒体 ROS 显著升高 2-3 倍($P<0.01$),人参皂苷 Rb1 处理后,线粒体 ROS 显著减少($P<0.01$),如图 3C,3D。实验结果表明人参皂苷 Rb1 通过降低线粒体 ROS 减少心肌细胞凋亡。

2.4 人参皂苷 Rb1 通过上调 PGC-1 α 减少高糖引起的细胞凋亡

上述动物实验发现人参皂苷 Rb1 处理可逆转高糖引起的 PGC-1 α 表达下调,线粒体 ROS 增多和细胞凋亡增加,从而缓解糖尿病心肌病。为明确其分子机制,建立了细胞模型,采用低糖培养基(Normal Glucose, NG)模拟正常血糖水平,高糖培养基(High Glucose, HG)模拟糖尿病小鼠高血糖水平^[10,11]。分离并培养新生大鼠原代心肌细胞,设计并合成 PGC-1 α siRNA,用 PGC-1 α siRNA 处理原代心肌细胞,人为干扰 PGC-1 α 表达。如图 4A,4B, Western Blot 验证 siPGCC-1 α 的干扰效率。实验发现, HG 组细胞凋亡数明显高于 NG 组 ($P<0.01$), HG+Rb1 组细胞凋亡数低于 HG 组($P<0.05$),表明人参皂苷 Rb1 可减少高糖导致的心肌细胞凋亡。与 HG+Rb1 组相比, HG+Rb1+siPGCC-1 α 组心肌细胞凋亡数又明显增多 ($P<0.05$),表明干扰 PGC-1 α 后,人参皂苷 Rb1 处理不能减少高糖引起的细胞凋亡,如图 4C,4D。图 4 间接证明了人参皂苷 Rb1

通过上调 PGC-1 α 减少高糖引起的细胞凋亡。

3 讨论

糖尿病已经成为全球主要健康问题之一,有研究表明,全球目前大约 4.5 亿糖尿病患者,预计到 2045 年将接近 7 亿^[1]。临床研究显示,糖尿病患者心力衰竭的发生率约为 19%-26%^[12,13]。糖尿病患者心衰发生率显著高于非糖尿病人群,糖尿病心肌病是糖尿病患者最常见的心血管并发症^[14]。然而,目前临床上治疗糖尿病心肌病,主要是以控制血糖和强化生活方式干预为主,并没有针对糖尿病心肌病的特效药物^[15]。

糖尿病心肌病的发病机制非常复杂。高糖引起的心肌细胞内活性氧增多,导致细胞凋亡被认为是糖尿病心肌病的重要机制,而细胞内活性氧的产生大多来源于线粒体^[16,17]。本研究中发现人参皂苷 Rb1 可减少高糖引起的线粒体 ROS 的产生,减少细胞凋亡。有研究表明,人参皂苷 Rb1 有抗炎、抗氧化、抗凋亡等作用^[18-20]。在心血管保护方面也有相关研究。最近研究发现,人参皂苷 Rb1 对心肌缺血再灌注损伤具有保护作用^[21,22];人参皂苷 Rb1 抑制异丙肾上腺素诱导的大鼠心肌细胞的凋亡^[23,24],还可降低肥胖小鼠骨骼肌胰岛素抵抗^[25],而且人参皂苷 Rb1 可缓解腹主动脉缩窄导致的心力衰竭^[26]。然而,人参皂苷 Rb1 能否缓解糖尿病引起的心肌损伤尚不明确。

在本研究中,按照 50 mg/Kg 剂量的 STZ,对小鼠进行腹腔注射,建立了糖尿病心肌病模型。实验分为三组:对照组,糖尿

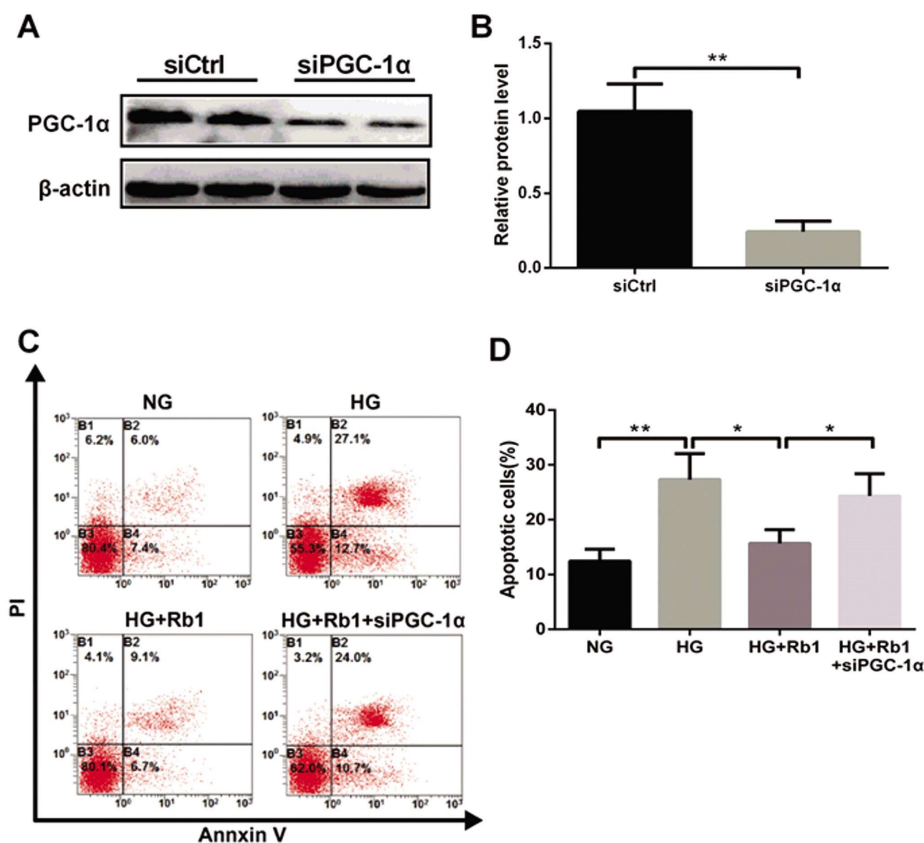


图 4 人参皂苷 Rb1 减少高糖引起的细胞凋亡的作用被 siPGC-1 α 所阻断

Fig.4 The effect of ginsenoside Rb1 on reducing apoptosis induced by high glucose is blocked by siPGC-1 α

Note: Data are expressed as $\bar{x} \pm SD$, n=6-8. *: $P<0.05$, **: $P<0.01$.

病组以及人参皂苷 Rb1 处理的糖尿病组,以研究人参皂苷 Rb1 对糖尿病心肌病的作用。超声心动图检测小鼠心功能,发现人参皂苷 Rb1 能显著缓解糖尿病小鼠心肌损伤。同时实验发现,糖尿病小鼠心肌中 PGC-1 α 表达降低,线粒体数目减少,而人参皂苷 Rb1 能通过上调 PGC-1 α 同时增加线粒体数目。为进一步明确人参皂苷 Rb1 缓解糖尿病心肌损伤的分子机制,实验发现人参皂苷 Rb1 可降低糖尿病心肌中凋亡相关蛋白 cleaved caspase-3 的表达,增加抗凋亡蛋白 bcl-2 的表达,减少糖尿病小鼠心肌细胞线粒体 ROS 的产生,从而减少细胞凋亡。与文献报道相一致,糖尿病小鼠心肌损伤的主要原因在于线粒体 ROS 产生增多,导致的心肌细胞凋亡增加^[27-30]。为阐明这种作用机制是否通过 PGC-1 α 来实现,采用高糖培养基模拟高糖环境培养原代心肌细胞,在细胞水平加以验证。实验结果证明,人参皂苷 Rb1 可减少高糖引起的原代心肌细胞的凋亡,但是,这种作用能被 siPGC-1 α 阻断。这就证明了人参皂苷 Rb1 通过上调 PGC-1 α 来减少心肌细胞凋亡,缓解糖尿病心肌损伤。

综上所述,本研究发现人参皂苷 Rb1 可通过上调 PGC-1 α , 增加线粒体生物发生,降低高糖引起的线粒体 ROS 增加,从而减少细胞凋亡,缓解 STZ 诱导的糖尿病小鼠心肌损伤。本研究为人参皂苷 Rb1 预防和治疗糖尿病心肌病提供了新的实验证据。但是,人参皂苷 Rb1 能否用于临床,治疗糖尿病心肌病患者或者对糖尿病患者起到预防作用尚不明确,仍需要相关的基础和临床试验加以验证。

参考文献(References)

- [1] Cho N H, Shaw J E, Karuranga S, et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2018, 138: 271-281
- [2] Go A S, Mozaffarian D, Roger V L, et al. Heart disease and stroke statistics--2014 update: a report from the American Heart Association [J]. Circulation, 2014, 129(3): e28-e292
- [3] Dandamudi S, Slusser J, Mahoney D W, et al. The prevalence of diabetic cardiomyopathy: a population-based study in Olmsted County, Minnesota[J]. J Card Fail, 2014, 20(5): 304-309
- [4] Zheng Q, Bao X Y, Zhu P C, et al. Ginsenoside Rb1 for Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury: Preclinical Evidence and Possible Mechanisms[J]. Oxid Med Cell Longev, 2017, 2017: 6313625
- [5] Zhang X, Liu M H, Qiao L, et al. Ginsenoside Rb1 enhances atherosclerotic plaque stability by skewing macrophages to the M2 phenotype[J]. J Cell Mol Med, 2018, 22(1): 409-416
- [6] 柯世业,石光耀,刘定辉,等. 人参皂苷 Rb1 通过 Sirt3/SOD2 通路延缓高糖诱导的人脐静脉内皮细胞衰老 [J]. 中山大学学报 (医学版), 2019, 40(03): 329-336
- [7] 马琪,张小玲,王春亚,等. 人参皂苷 Rb1 调节脑微血管 NOS/NO 改善脑细胞膜通透性 [J]. 现代生物医学进展, 2019, 19(08): 1430-1435
- [8] Lehman J J, Barger P M, Kovacs A, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 promotes cardiac mitochondrial biogenesis[J]. J Clin Invest, 2000, 106(7): 847-856
- [9] Ding M, Feng N, Tang D, et al. Melatonin prevents Drp1-mediated mitochondrial fission in diabetic hearts through SIRT1-PGC1 α pathway[J]. J Pineal Res, 2018, 65(2): e12491
- [10] Wu S, Lu Q, Ding Y, et al. Hyperglycemia-Driven Inhibition of AMP-Activated Protein Kinase α 2 Induces Diabetic Cardiomyopathy by Promoting Mitochondria-Associated Endoplasmic Reticulum Membranes In Vivo [J]. Circulation, 2019, 139(16): 1913-1936
- [11] Zhang M, Zhang L, Hu J, et al. MST1 coordinately regulates autophagy and apoptosis in diabetic cardiomyopathy in mice [J]. Diabetologia, 2016, 59(11): 2435-2447
- [12] Ryden L, Armstrong P W, Cleland J G, et al. Efficacy and safety of high-dose lisinopril in chronic heart failure patients at high cardiovascular risk, including those with diabetes mellitus. Results from the ATLAS trial[J]. Eur Heart J, 2000, 21(23): 1967-1978
- [13] Shindler D M, Kostis J B, Yusuf S, et al. Diabetes mellitus, a predictor of morbidity and mortality in the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD) Trials and Registry[J]. Am J Cardiol, 1996, 77(11): 1017-1020
- [14] Bertoni A G, Tsai A, Kasper E K, et al. Diabetes and idiopathic cardiomyopathy: a nationwide case-control study [J]. Diabetes Care, 2003, 26(10): 2791-2795
- [15] Gulsin G S, Athithan L, Mccann G P. Diabetic cardiomyopathy: prevalence, determinants and potential treatments [J]. Ther Adv Endocrinol Metab, 2019, 10: 1906211851
- [16] Liang W, Chen M, Zheng D, et al. The Opening of ATP-Sensitive K⁺ Channels Protects H9c2 Cardiac Cells Against the High Glucose-Induced Injury and Inflammation by Inhibiting the ROS-TLR4-Necroptosis Pathway[J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 41(3): 1020-1034
- [17] Abuvarab N, Munsey T S, Jiang L H, et al. High glucose-induced ROS activates TRPM2 to trigger lysosomal membrane permeabilization and Zn²⁺-mediated mitochondrial fission[J]. Sci Signal, 2017, 10(490)
- [18] Hashimoto R, Yu J, Koizumi H, et al. Ginsenoside Rb1 Prevents MPP⁺-Induced Apoptosis in PC12 Cells by Stimulating Estrogen Receptors with Consequent Activation of ERK1/2, Akt and Inhibition of SAPK/JNK, p38 MAPK [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2012, 2012: 693717
- [19] Wang J, Qiao L, Li S, et al. Protective effect of ginsenoside Rb1 against lung injury induced by intestinal ischemia-reperfusion in rats [J]. Molecules, 2013, 18(1): 1214-1226
- [20] Huang X P, Qiu Y Y, Wang B, et al. Effects of Astragaloside IV combined with the active components of Panax notoginseng on oxidative stress injury and nuclear factor-erythroid 2-related factor 2/heme oxygenase-1 signaling pathway after cerebral ischemia-reperfusion in mice[J]. Pharmacogn Mag, 2014, 10(40): 402-409
- [21] Li Y H, Li Y Y, Fan G W, et al. Cardioprotection of ginsenoside Rb1 against ischemia/reperfusion injury is associated with mitochondrial permeability transition pore opening inhibition[J]. Chin J Integr Med, 2016. [Epub ahead of print]
- [22] Cui Y C, Pan C S, Yan L, et al. Ginsenoside Rb1 protects against ischemia/reperfusion-induced myocardial injury via energy metabolism regulation mediated by RhoA signaling pathway [J]. Sci Rep, 2017, 7: 44579
- [23] 冷雪,贾连群,王莹,等. 人参皂苷素 Rb1 预处理对异丙肾上腺素诱导大鼠急性心肌梗死心肌凋亡相关蛋白表达的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2017, 44(01): 184-186

位于细胞周期检查点时间延长,增加细胞肿瘤暴露于紫杉醇作用的时间,从而导致联合治疗具有更强的抑制肿瘤增殖及促进细胞凋亡的作用。

本研究表明中频交变微电流对 A549 细胞具有一定的抑制增殖、促进凋亡的作用;同时其联合紫杉醇注射液对 A549 细胞的增殖可表现出协同增效作用,其抗 A549 细胞机制与诱导细胞凋亡、促进细胞周期阻滞相关。中频交变微电流及联合药物的抗肿瘤作用研究为 NSCLC 的治疗新技术及药物增敏提供了的全新思考方向,为我国创新肿瘤物理治疗新技术开拓了新思路,但其分子作用机制及临床应用方式尚需进一步深入研究。

参考文献(References)

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics, 2017[J]. CA Cancer J Clin. 2017, 67(1): 7-30
- [2] Goggins CA, Khachemoune A. The use of electrochemotherapy in combination with immunotherapy in the treatment of metastatic melanoma: a focused review [J]. Int J Dermatol 2018 Nov 26 [Epub ahead of print]
- [3] Pless M, Weinberg U. Tumor treating fields: concept, evidence and future[J]. Expert Opin Investig Drugs, 2011, 20(8): 1099-106
- [4] Gera N, Yang A, Holtzman TS, et al. Tumor treating fields perturb the localization of septins and cause aberrant mitotic exit [J]. PLoS ONE, 2015, 10(5): e0125269
- [5] 马俊,王然,唐劲天,等. 中频交变电流抑制肿瘤细胞的体外增殖[J]. 现代生物医学进展, 2014, 14(11): 2032-203
- [6] 毛 昀,谢青,张北山,等. 中频交变微电流联合替莫唑胺对 U251 细胞的影响[J].现代肿瘤医学, 2018, 26(16): 2494-2498
- [7] 谢青,王晓文,汪悦,等. 中频交变电流联合紫杉醇抗乳腺癌 MCF-7 细胞作用的研究[J]. 中日友好医院学报, 2017, 31(01): 26-30+2
- [8] Davvies A, Weinberg U, Palti Y. Tumor treating fields: a new frontier in cancer therapy[J]. Ann New York Academy Sci, 2013: 86-95
- [9] Janigro D, Perju C, Fazio V, et al. Alternating current electrical stimulation enhanced chemotherapy: a novel strategy to bypass multidrug resistance in tumor cells[J]. BMC Cancer, 2006, 6: 72
- [10] 谢柳倩,马俊,王晓文,等. 中频交变微电流影响人乳腺癌细胞耐药性的初步研究[J].现代肿瘤医学, 2015, 23(16): 2251-2255
- [11] Weaver BA. How Taxol/paclitaxel kills cancer cells [J]. Mol Biol Cell, 2014, 25(18): 2677-2681
- [12] Moshe G, Rosa SS, Tali, et al. Mitotic Spindle Disruption by Alternating Electric Fields Leads to Improper Chromosome Segregation and Mitotic Catastrophe in Cancer Cells [J]. Sci Rep, 2015, 5: 18046
- [13] Tong J Q, Liu R T, Zhao L Y, et al. Inhibiting Human Breast Cancer Cells (MCF-7) with Alternating Micro-current at Intermediate Frequency (ACIF) in Vitro and in Vivo [C]. World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering. Beijing, China: Springer Berlin Heidelberg, 2013: 1596-1599
- [14] Baotong Z, Ranran Z, Yuan H, et al. Micro RNA 100 sensitizes luminal A breast cancer cells to paclitaxel treatment in part by targeting mTOR[J]. Oncotarget, 2016, 7(5): 5702-5714
- [15] Xiaoli R, Bingbing Z, Hongjian C, et al. Paclitaxel suppresses proliferation and induces apoptosis through regulation of ROS and the AKT/MAPK signaling pathway in canine mammary gland tumor cells [J]. Mol Med Rep, 2018, 17(6): 8289-8299
- [16] Mark A. Feitelson, AA, Rob J, et al. Sustained proliferation in cancer: mechanisms and novel therapeutic targets [J]. Semin Cancer Biol, 2015, 35(Suppl): S25-S54
- [17] 孙红亚,李纪鹏,邵静萍. 紫杉醇通过上调 miR-7 抑制非小细胞肺癌细胞的抗增殖作用并促进其凋亡的应用研究[J].中国药物与临床, 2019, 19(01): 8-10
- [18] Natalia BM, Gabriela CS, Juan CR, et al. Natural Compounds as Modulators of Cell Cycle Arrest: Application for Anticancer Chemotherapies[J]. Curr Genomics, 2017, 18(2): 106-131
- [19] Li Y, Zhang X, Zhang J, et al. A small molecule MTBT prevents cancer cell growth by activating p38 MAPK [J]. Anti-cancer drugs, 2014, 25(4): 423-432
- [20] Vanessa O, Weili W, Brittney H, et al. Cyclin A/Cdk2 regulates Cdh1 and claspain during late S/G2 phase of the cell cycle [J]. Cell Cycle, 2014, 13(20): 3302-3311
- (上接第 23 页)
- [24] Wang X F, Liu X J, Zhou Q M, et al. Ginsenoside rb1 reduces isoproterenol-induced cardiomyocytes apoptosis in vitro and in vivo [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013, 2013: 454389
- [25] 赵丹丹,白颖,吴瑞,等. 人参皂苷 Rb1 对肥胖小鼠骨骼肌胰岛素抵抗及 AMPK 信号通路的影响[J].世界中医药, 2019, 14(04): 852-858
- [26] Zheng X, Wang S, Zou X, et al. Ginsenoside Rb1 improves cardiac function and remodeling in heart failure [J]. Exp Anim, 2017, 66(3): 217-228
- [27] Ji L, Liu F, Jing Z, et al. MICU1 Alleviates Diabetic Cardiomyopathy Through Mitochondrial Ca^{2+} -Dependent Antioxidant Response [J]. Diabetes, 2017, 66(6): 1586-1600
- [28] Wu K M, Hsu Y M, Ying M C, et al. High-density lipoprotein ameliorates palmitic acid-induced lipotoxicity and oxidative dysfunction in H9c2 cardiomyoblast cells via ROS suppression [J]. Nutr Metab (Lond), 2019, 16: 36
- [29] Volpe C, Villar-Delfino P H, Dos A P, et al. Cellular death, reactive oxygen species (ROS) and diabetic complications[J]. Cell Death Dis, 2018, 9(2): 119
- [30] Teshima Y, Takahashi N, Nishio S, et al. Production of reactive oxygen species in the diabetic heart. Roles of mitochondria and NADPH oxidase[J]. Circ J, 2014, 78(2): 300-306