

香鳞毛蕨有效部位对申克孢子丝菌酵母相的体外抗真菌作用研究

万江帆¹, 沈志滨¹, 江涛^{1,2}, 唐春萍¹, 王洁¹ (1. 广东药学院中药学院, 广东 广州 510006; 2. 广东药学院动物实验中心, 广东 广州 510006)

摘要: **目的** 探讨香鳞毛蕨有效部位对申克孢子丝菌的体外抑菌作用, 进一步明确香鳞毛蕨有效部位的抗菌谱。 **方法** 取4株申克孢子丝菌为受试菌株, 培养至酵母相, 分别采用琼脂扩散法测定抑菌圈直径和微量稀释法测定最低抑菌浓度(MIC)与最低杀菌浓度(MFC)。 **结果** 香鳞毛蕨有效部位对4株申克孢子丝菌酵母相的抑菌圈平均直径为25.5 mm, 对4株申克孢子丝菌酵母相的MIC几何均数为生药0.18 mg·mL⁻¹, 但MFC>生药20 mg·mL⁻¹。 **结论** 香鳞毛蕨有效部位对申克孢子丝菌酵母相有较强抑菌作用, 但无杀菌作用。

关键词: 申克孢子丝菌; 香鳞毛蕨; 体外抗真菌作用

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)01-0044-05

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.01.012

In Vitro Antifungal Activity of Active Fraction of *Dryopteris fragrans* Against *Sporothrix schenckii* Complex in Yeast Phase

WAN Jiangfan¹, SHEN Zhibin¹, JIANG Tao^{1,2}, TANG Chunping¹, WANG Jie¹ (1. School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006 Guangdong, China; 2. Laboratory Animal Center, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To determine antifungal activity of active fraction of *Dryopteris fragrans* against *Sporothrix schenckii* Yeast Phase *in vitro*, and further to clarify its antimicrobial spectrum. **Methods** Four isolates of *Sporothrix schenckii* were cultured and developed into yeast phase, and then agar diffusion test and microdilution assay were used to obtain the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicide concentration(MFC) value of the four isolates. **Results** Mean diameter of inhibition zones of 4 isolates of *S. schenckii* was 25.5 mm, while their geometric mean of MIC was 0.18 mg·mL⁻¹ (for the crude herb) and that of MFC was over 20 mg·mL⁻¹(for the crude herb). **Conclusion** Active fraction of *Dryopteris fragrans* exerts strong inhibitive effect against *S. schenckii*, but has no antifungal action *in vitro*.

Keywords: *Sporothrix schenckii*; *Dryopteris fragrans*; *In vitro* antifungal activity

申克孢子丝菌(*Sporothrix Schenckii*)是一种能引起孢子丝菌病的双相致病真菌, 现被认为是由不同孢子丝菌构成的复合物), 其广泛存在于热带及亚热带地区的土壤与腐烂植物中, 能通过被染菌与动物抓伤等途径侵入皮肤组织, 引发局部乃至系统性感染^[1]。

根据其导致的皮损特点在临床上被分为固定型、淋巴管型和散播型。美国感染学会2007年制定的《孢子丝菌病治疗指南》^[2]推荐伊曲康唑、特比奈芬、氟康唑、两性霉素B用于治疗孢子丝菌病, 疗效确切。然而, 两性霉素B由于具有较强的肾毒性而限制了它的应

收稿日期: 2013-08-27

作者简介: 万江帆, 男, 硕士研究生, 研究方向: 中药及复方药理和毒理学研究。Email: 781808799@qq.com。通讯作者: 唐春萍, 教授, Email: tchp66@163.com。

基金项目: 科技部“十二五”重大新药创制(2011ZX09102-007-03); 广东省科技厅科技计划项目(2010B030700044, 2011A030100013); 2010年广东省教育厅高层次人才资助项目; 广州市科技局科技计划项目(12A062131631)。

用^[3], 唑类药物也存在一定肝毒性与过敏反应, 故从传统中药中开发高效低毒的抗真菌药物具有一定的临床意义。

香鳞毛蕨(*Dryopteris fragrans*)是鳞毛蕨科鳞毛蕨属植物, 广泛分布于我国东北、华北各省, 在俄罗斯、日本、朝鲜、欧美亦有分布。在我国东北地区, 民间利用香鳞毛蕨治疗银屑病及各种皮肤癣病已有几十年历史, 素有“皮肤病克星”的美誉。通过分离鉴定其药效成分, 发现香鳞毛蕨中含有间苯三酚类、黄酮类、萜类等多种化学成分, 前期研究发现, 香鳞毛蕨对各类皮肤癣菌均有较强的体外抑菌作用, 其中以 95 %乙醇提取液抑菌效果最强^[4]。本文采用体外抗真菌实验方法评价香鳞毛蕨有效部位对申克孢子丝菌的抑制作用, 以进一步明确其抗菌谱。

1 材料与方法

1.1 材料 香鳞毛蕨, 采自黑龙江省五大连池, 由哈尔滨商业大学药学院张德连教授鉴定为鳞毛蕨属类植物香鳞毛蕨; RPMI Medium 1640, 美国 GIBCO 公司, 批号: 785914; MOPS, 广州瑞舒生物科技有限公司, 批号: 20120926; 二甲基亚砜(DMSO), 广州瑞舒生物科技有限公司, 批号: 20120807; 蛋白胨, 北京希凯创新科技有限公司, 批号: 981557; 葡萄糖, 国药集团化学试剂有限公司, 批号: 20120417; 琼脂, 上海美季生物技术有限公司, 批号: 20110626; 脑心浸液琼脂, 海博生物技术有限公司, 批号: HB8478; 伊曲康唑, 纯度: 99.4 %, 寿光富康制药有限公司, 批号: A-10511211001。

1.2 仪器 电热恒温培养箱, 上海一恒科学仪器有限公司; 超净工作台, 苏净集团安泰公司; 压力蒸汽灭菌器, 上海博讯实业有限公司医疗设备厂; XSP-10C 生物显微镜, 上海永享光学仪器制造有限公司; FA2104 电子分析天平, 上海天平仪器厂; PB-10 PH 计, Sartorius 科学仪器有限公司; TDL-40B 型离心机, 上海安亭科学仪器厂。

1.3 菌株 所有菌株均购自中国医学科学院皮肤病研究所(南京)。申克孢子丝菌标准菌株 2 株, 编号: CMCC(F)_{D_{1c}}、CMCC(F)_{D_{1d}}; 申克孢子丝菌临床菌株 2 株, 编号: 20123737, 20134686; 近平滑念珠菌标准菌株 1 株, 编号: ATCC 22019。

1.4 方法

1.4.1 培养基的配制 沙堡氏培养基(SDA, Sabouraud dextrose agar)的配制: 用天平称取蛋白胨 10 g, 葡萄

糖 20 g、琼脂 18 g, 用量筒量取蒸馏水 1000 mL 置烧杯中混匀, 加热溶解, 并用 1 mol·L⁻¹ 的盐酸溶液调节 pH 值至 5.4, 分装于锥形瓶内, 121 °C 高温高压灭菌 30 min。脑心浸液琼脂(BHIA, Brian heart infusion agar)的配制方法: 取市售脑心浸液琼脂粉末 52.0 g, 加热搅拌溶解于 1000 mL 蒸馏水中, 121 °C 高压灭菌 30 min。RPMI-1640 液体培养基的配制方法: 称取 RPMI-1640 粉末 10.4 g 加蒸馏水 900 mL, 再称取 34.53 g 的 MOPS 粉末, 搅拌使其溶解。同时用 1 mol·L⁻¹ NaOH 溶液调培养基的 pH 为 7.0±0.1, 加蒸馏水使培养基终体积为 1000 mL, 用 0.22 μm 滤膜过滤消毒, 无菌分装至锥形瓶内。以上培养基保存在 4 °C 冰箱内备用。

1.4.2 香鳞毛蕨有效部位的制备 香鳞毛蕨有效部位, 由广东药学院中药化学教研室制备, 取香鳞毛蕨地上部分经乙醇提取并富集纯化制得, 其主要成分为间苯三酚类化合物, 经紫外含量测定, 总间苯三酚含量达到 50 %以上。

1.4.3 申克孢子丝菌酵母相的培养 先将购置的菌株转种至含 SDA 培养基的无菌试管中, 置于 30 °C 培养箱恒温孵育 14 d, 得到中央有少许褶皱且呈棕色硬质的菌落, 此为申克孢子丝菌菌丝相, 再将菌丝相转种至含有 BHIA 培养基的试管中, 置于 37 °C 培养箱中恒温培养 10 d, 并连续转种两次使菌丝相完全转化为酵母相, 最后得到白色湿润的酵母样菌落, 所得申克孢子丝菌酵母相显微镜下进行形态学鉴定。挑取少许菌落用乳酸酚棉兰染料染色, 观察单个视野(×400)内是否只存在椭圆形至雪茄形孢子, 而无大量菌丝出现, 否则继续传代, 直至单个视野内未见菌丝或只含有 1~2 条少数菌丝。

1.4.4 琼脂扩散法 取中速滤纸, 用纸张打孔机将滤纸剪切成直径为 6 mm 的滤纸片, 然后将浓度为生药量 2 g·mL⁻¹ 的香鳞毛蕨有效部位溶液滴加在滤纸片上^[5], 每片滤纸约吸收药液 1.5 μL, 并于室温下晾干, 备用。用接种环刮取少量申克孢子丝菌酵母相菌落, 并将菌落均匀地分散于无菌生理盐水中, 调整浊度至 0.5 麦氏浊度(相当于菌液浓度约为 1×10⁶~5×10⁶ CFU·mL⁻¹)。取无菌棉签蘸取菌液均匀地涂抹在 BHIA 培养基平板表面, 晾置含菌液的平板约 5 min 后, 放置含药纸片并使其紧密贴合培养基表面。最后, 将平板置于酵母相为 35 °C 条件下培养 5 d 后用刻度尺量取抑菌圈直径。各株申克孢子丝菌按以上操作平行重复测定 3 次, 并计算抑菌圈平均直径与标

准差。

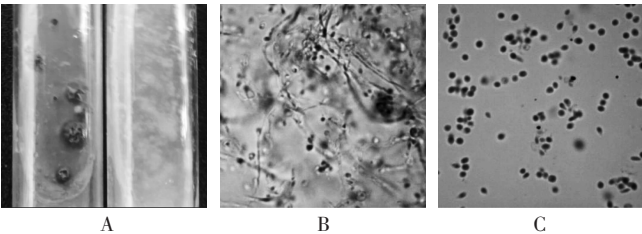
1.4.5 微量稀释法 参考美国临床与实验标准委员会 (CLSI) 制定的 M27-A3 指南^[9], 并根据申克孢子丝菌的生长缓慢的特点进行了改进。将培养在 BHIA 培养基上的菌落用生理盐水冲洗, 用巴氏吸管转移至无菌试管中, 调整浊度至 0.5 麦氏浊度, 并用血细胞计数板进行计数, 使菌液浓度为 $1 \times 10^6 \sim 5 \times 10^6$ CFU $\cdot$ mL⁻¹。用 RPMI-1640 液体培养基将菌液稀释 10 倍, 使浓度为 $1 \times 10^5 \sim 5 \times 10^5$ CFU $\cdot$ mL⁻¹ 之间。用 RPMI-1640 液体培养基稀释香鳞毛蕨有效部位贮备液(生药 2 g $\cdot$ mL⁻¹)至浓度为生药 40 mg $\cdot$ mL⁻¹, 于 96 孔板上的第 1 至第 10 列用 RPMI-1640 液体培养基进行横向倍比稀释, 第 11 列为生长对照孔, 加入 100 μ L RPMI-1640 液体培养基; 第 12 列为空白对照孔, 加入 200 μ L RPMI-1640 液体培养基。然后再于第 1~11 列各孔中加入 100 μ L 接种菌液, 此时, 第 1~10 列的香鳞毛蕨有效部位终浓度为生药 20 mg $\cdot$ mL⁻¹ 至生药 0.039 mg $\cdot$ mL⁻¹, 且各孔中抗菌药物贮备液溶剂浓度(V/V)低于 1%, 符合 M27-A3 规定。将 96 孔板置于 35 $^{\circ}$ C 恒温孵育 5 d, 以肉眼观察, 以与生长对照孔比较产生了 80% 生长抑制的终浓度为最低抑菌浓度(MIC)。此外, 在每次测定时进行质量控制, 质控(QC)株采用近平滑念珠菌(ATCC 22019), 质控药物为氟康唑。在平行操作条件下, QC 株的 MIC 应在 0.12~0.5 μ g $\cdot$ mL⁻¹ 范围内, 如此则视为测定结果有效可信。为进一步测定最低杀菌浓度(MFC), 取判读完 MIC 的 96 孔板中药物终浓度大于 MIC 的各孔中的液体 100 μ L, 加入无菌蒸馏水 5 mL 震荡洗涤, 以洗去真菌表面的抗菌药物, 再以 8000 $\times$ g 离心 10 min 使菌体沉淀, 弃去上层清液, 留底部 500 μ L 液体混匀, 用无菌棉签蘸取液体在无菌条件下接种 BHIA 培养基, 并置于 35 $^{\circ}$ C 孵育 5 d 后, 观察是否有申克孢子丝菌长出。各株申克孢子丝菌按以上操作平行重复测定 4 次, 计算 MIC 的几何均数。

1.4.6 统计学处理方法 采用 SPSS 软件进行统计学分析, 采用 *t* 检验比较标准株与临床分离株结果是否具有统计学差异。数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 取 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 申克孢子丝菌酵母相的培养 见图 1。培养得到的申克孢子丝菌菌丝相菌落表面为棕色至褐色的硬质菌落, 有褶皱, 酵母相菌落为白色至灰白色湿润的菌

落, 见图 1A。在显微镜下, 菌丝相可见细长分隔菌丝, 菌丝末端与两侧分布有分身孢子。酵母相则无菌丝形成, 仅见大量圆形孢子, 见图 1B、图 1C。所有受试菌株按上述操作步骤后均可转为酵母相, 转化率达到 100%。



A. 左侧为申克孢子丝菌菌丝相菌落形态, 右侧为酵母相菌落形态; B. 申克孢子丝菌菌丝相在显微镜下的形态($\times 400$); C. 申克孢子丝菌酵母相在显微镜下的形态($\times 400$)

图 1 申克孢子丝菌菌丝相及酵母相菌落形态观察
Figure 1 The observation of yeast and mycelial phase of *Sporothrix schenckii*.

2.2 琼脂扩散法 见表 1。4 株申克孢子丝菌酵母相的抑菌圈直径几何均数为 25.5 mm。其中, 标准菌株和临床分离株均值分别为 (25.8 ± 0.75) mm 和 (25.0 ± 0.63) mm, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 香鳞毛蕨有效部位抗申克孢子丝菌酵母相抑菌圈直径 (mm)

Table 1 Inhibition zone of active fraction of *Dryopteris fragrans* against *Sporothrix Schenckii* (mm)

菌株编号	抑菌圈直径范围	各株均值	4 株菌的均值
CMCC(F)D1c ^a	25 ~ 26	25.6 $\pm$ 0.6	
CMCC(F)D1d ^a	26 ~ 27	26.3 $\pm$ 0.6	
20123737 ^b	25 ~ 26	25.6 $\pm$ 0.6	25.5 $\pm$ 0.8
20134686 ^b	24 ~ 25	24.7 $\pm$ 0.6	

注: a. 标准菌株 b. 临床分离菌株。

2.3 微量稀释法 见表 2。微量稀释法每次平行操作测定 4 次, 以 4 次结果的平均值进行统计, 4 株申克孢子丝菌酵母相的 MIC 几何均数为生药 0.170 mg $\cdot$ mL⁻¹, 结果按前述方法进行 MFC 测定, 所有培养基上均有申克孢子丝菌菌落长出, 未发现香鳞毛蕨有效部位具有杀菌作用, 其 MFC > 生药量 20 mg $\cdot$ mL⁻¹。其中, 标准菌株和临床分离株 GM 值分别为 (0.293 ± 0.06) mm 和 (0.390 ± 0.15) mm, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

申克孢子丝菌(*Sporothrix Schenckii*)曾在过去相当长的一段时间里被认为是一种唯一能引起孢子丝菌

表 2 香鳞毛蕨有效部位抗申克孢子丝菌酵母相 MIC($\bar{x}\pm s$, mg·mL⁻¹)

Table 2 MIC(crude herb mg·mL⁻¹) of active fraction of *Dryopteris fragrans* against *Sporothrix Schenckii*

菌株编号	MIC	GMa	4 株菌的 GM ^a
CMCC(F)D1c ^a	0.156	0.156	
CMCC(F)D1d ^a	0.156	0.156	
20123737 ^c	0.077 ~ 0.312	0.156	0.170 ^b
20134686 ^c	0.156 ~ 0.312	0.221	

注: a. 几何均数 b. 标准菌株 c. 临床分离菌株。

病的双相致病真菌,但随着检测手段的更新,近年来发现申克孢子丝菌并非单一菌种,而是由多种孢子丝菌构成的孢子丝菌复合物(the sporothrix complex),现已从中分出的新的真菌包括:*S.globasa*、*S. Brasiliensis*、*S. Mexicana*、*S. Lurie*、*S. Albicansi*等^[1,7-8]。目前国内外仍缺乏按不同分离菌株进行相关体外实验的研究,特别是 CLSI 于 2008 年制定的 M38-A2 中仍然将申克孢子丝菌菌丝相纳入该方法的适用范围之中,说明目前将孢子丝菌复合物视作传统意义上的单一菌种进行体外抗真菌仍具有一定合理性。

申克孢子丝菌属于双相真菌的特性决定其体外抗真菌试验具有一定复杂性。目前,对于采用酵母相还是菌丝相进行体外抗真菌实验仍然存在争议,有学者提出,由于申克孢子丝菌在患者体内是以酵母相存在,故采用酵母相进行体外抗真菌实验更能反映临床的真实情形^[9],但其生长速度缓慢,故不能完全适合 CLSI 推荐的用于酵母菌的 M27-A 方案。而 CLSI 提出的 M38-A2 方案仅适用于申克孢子丝菌的菌丝相。有相关研究表明,对同一抗真菌药物,申克孢子丝菌的不同生长相对 MIC 有显著影响,Trilles L 等^[10]比较了申克孢子丝菌菌丝相与酵母相对多种常见抗真菌药物的 MIC 差异,结果发现酵母相除对里氟康唑(ravuconazole)的 MIC 大于菌丝相外,在其余 7 种抗真菌药物测试中均显示出较菌丝相更高的敏感性且差异有统计学意义。

由于目前没有统一方案可以适用于申克孢子丝菌酵母相,国内部分学者^[11-12]主要在 M27-A3 方案基础上进行了改进,由于申克孢子丝菌生长缓慢,进行微量稀释法时常增大接种菌液的浓度并延长孵育时间。本实验亦参考其方法,将申克孢子丝菌酵母相接种菌液的浓度调为 1×10⁵~5×10⁵ CFU mL⁻¹ 之间,而非 M27-A3 方案所规定的 5×10²~2.5×10³ CFU mL⁻¹ 之间。

大部分酵母菌生长速度较快,一般孵育 48 h 即可判读 MIC,而由于申克孢子丝菌酵母相生长速度缓慢,须至第 5~6 天时才可判读 MIC^[13]。

申克孢子丝菌菌丝相转化至酵母相涉及到复杂调控机制,目前该机制并未完全被揭示,有学者研究发现,钙调蛋白在该转化过程中起关键性的作用^[14]。目前对于如何获得酵母相也有相关的研究^[15],有文献报道^[16]培养于 37 ℃ 下的 BHIA 培养基及含 5 % 羊血的 BHIA 培养基能取得最高的转化率。也有文献报道^[17]次传代培养可以提高酵母相的转化率^[8]。还有学者认为 5 % CO₂ 更有利于孢子的生成,本次实验中所采用的在 BHIA 培养基上多次传代的方法,转化率为 100 %,具有简便易行的特点,值得推广采用。

本实验采用琼脂扩散法和微量稀释法,选用申克孢子丝菌株酵母相为研究对象,对香鳞毛蕨有效部位的抑菌活性进行了研究。中医理论认为,癣病属于外感虫毒,湿热毒邪困阻引起,一般以辛味药治疗。而香鳞毛蕨具有特殊香气,具有较多挥发油成分,在性味上亦属于辛味药范畴。本次琼脂扩散法和微量稀释法的测定结果表明香鳞毛蕨有效部位对申克孢子丝菌酵母相有明显的抑菌活性,相比于临床常用的唑类药物和丙烯胺类抗真菌剂,其主要成分间苯三酚类衍生物的结构新颖,可能具有与其他抗真菌药物不同的作用机制。本研究对后续香鳞毛蕨的抗真菌研究以及香鳞毛蕨有效部位治疗申克孢子丝菌病提供了实验依据。

参考文献:

[1] Barros M, Peas R. *Sporothrix schenckii* and Sporotrichosis[J]. Clinical Microbiology Reviews, 2011, 24(4): 633.

[2] Kauffman CA, Bustamante B, Chapman SW, et al. Infectious Diseases Society of America. Clinical practice guidelines for the management of sporotrichosis: 2007 update by the Infectious Diseases Society of America[J]. Clin Infect Dis, 2007, 45: 1255.

[3] Wade RL, Chaudhari P, Natoli JL, et al. Nephrotoxicity and other adverse events among inpatients receiving liposomal amphotericin B or amphotericin B lipid complex[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2013, 76 (3): 361.

[4] 范华倩, 沈志滨, 唐春萍, 等. 香鳞毛蕨不同提取液体外抗真菌作用研究[J]. 中药材, 2012, 35(12): 1981.

[5] Seneviratne CJ, Wong RW, Samaranayake LP. Potent anti-microbial activity of traditional Chinese medicine herbs against *Candida* species [J]. Mycoses, 2008, 51(1): 30.

[6] Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard CLSI document M27-A3[S]. Wayne, PA: CLSI, 2008.

- [7] Oliveria DC, Lopes PG, Spader TB, et al. Antifungal susceptibilities of *Sporothrix albicans*, *S. brasiliensis*, and *S. luriei* of the *S. schenckii* complex identified in Brazil[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(8): 3047.
- [8] Rodrigues AM, De Hoog S, De Camargo ZP. Emergence of pathogenicity in the *Sporothrix schenckii* complex[J]. Med mycol, 2013, 51(4): 405.
- [9] 蔡晴, 宋洋, 沈永年, 等. 申克孢子丝菌菌丝相至酵母相转化的实验研究[J]. 中国真菌学杂志, 2010, 5(5): 273.
- [10] Trilles L, Fernández-Torres B, Dos Santos Lazéra M, et al. In vitro antifungal susceptibilities of *sporothrix schenckii* in two growth phases [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2005, 49(9): 3952.
- [11] 蔡晴, 李珊山, 宋洋, 等. 量稀释法检测申克孢子丝菌酵母相体外抗真菌药物敏感性[J]. 中国皮肤性病学, 2011, 25(5): 355.
- [12] Kohler LM, Monteiro PC, Hahn RC, et al. In vitro susceptibilities of isolates of *Sporothrix schenckii* to itraconazole and terbinafine[J]. J clin microbiol, 2004, 42(9): 4319.
- [13] 赵景辉, 孙秋宁, 闫蓝, 等. 申克孢子丝菌双相体外药物敏感试验研究[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2007, 23(7): 575.
- [14] Aquino-Pinero E, Rodriguez-del Valle N. Characterization of a protein kinase C gene in *Sporothrix schenckii* and its expression during the yeast-to-mycelium transition[J]. Med Mycol, 2002, 40(2): 185.
- [15] 王晓慧, 刘伟, 李若瑜. 申克孢子丝菌体外药敏试验研究近况[J]. 中国真菌学杂志, 2009, 4(2), 120.
- [16] 张静, 黄怀球, 薛汝增, 等. 温度和培养基在申克孢子丝菌酵母相转化中的作用研究[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2010, 31(4): 491.
- [17] 薛汝增, 张静, 黄怀球. 申克孢子丝菌体外药敏试验研究进展[J]. 中国真菌学杂志, 2008, 3(6): 372.
- (编辑: 邓响潮)

毛冬青对心衰模型大鼠心功能及 miR133a 表达的影响

黄习文, 游志德, 陈洁, 冼绍祥(广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405)

摘要: **目的** 观察毛冬青对心衰大鼠心功能及微小 RNA133a(miR133a)表达的影响。**方法** 腹主动脉缩窄术复制大鼠心衰模型, 随机分为毛冬青高、低剂量组, 卡托普利组, 心衰模型组和假手术组, 干预 2 周后抽血查 B 型尿钠肽(BNP)和行心脏彩超检查心功能, 并对大鼠心脏组织 miR133a 进行荧光 PCR 检测。**结果** 心衰模型组的心功能指标明显低于假手术组, 3 个药物干预组心功能指标均有较好的提高作用, 组间作用无显著性差异; 与假手术组比较, 心衰模型组 miR133a 的表达下调, 各药物干预组与心衰模型组比较, miR133a 的表达均显著上升, 其中以毛冬青低剂量组最为显著。**结论** 腹主动脉缩窄可成功复制大鼠慢性心力衰竭模型, 心力衰竭大鼠模型较假手术组大鼠 miR133a 的表达下调。不同剂量的毛冬青均能改善慢性心力衰竭大鼠模型的心功能, 并且能上调 miR133a 的表达, 但上调幅度与心功能改善情况未呈明显量效关系。

关键词: 慢性心力衰竭; 毛冬青; miR133a; 大鼠

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)01-0048-03

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.01.013

Effect of Radix Ilicis Pubescentis on Heart Function and the miR133a Expression in Chronic Heart Failure Rats

HUANG Xiwen, YOU Zhide, CHEN Jie, XIAN Shaoxiang(The First Affiliated Hospital of Guangzhao University of Chinese Medicine, GuangZhou 510405 Guangdong, China)

Abstract: Objective To investigate the influence of Radix Ilicis Pubescentis(RIP) on the heart function and microRNA133a(miR133a) expression in chronic heart failure(CHF) rats. **Methods** CHF rat model was induced by abdominal aorta coarctation for 4 weeks. Rats were divided into high-dose RIP group, low-dose RIP group, Captopril group, CHF model group and sham operation group. After intervention for 2 weeks, blood brain natriuretic peptide

收稿日期: 2013-08-11

作者简介: 黄习文, 男, 主治医师, 研究方向: 中医药防治心脑血管疾病及脾胃病的研究。Email: uncleking@163.com。通讯作者: 冼绍祥, 教授, 博士生导师, 研究方向: 中医药防治心脑血管疾病的研究。Email: zhongyfy@126.com。

基金项目: 广东省中医药局建设中医药强省科研课题(2010175); 广州中医药大学中医内科学特色重点学科建设项目。