

- disease[J]. *Annales d'Endocrinologie*, 2001, 62(2): 93-100.
- [2] 郑凯, 史庭慧, 张苏明. 颈动脉粥样硬化与缺血性进展性脑卒中的相关性研究[J]. *卒中与神经疾病*, 2005, 12(2): 71-73.
- [3] Peter L. Inflammation in atherosclerosis [J]. *Nature*, 2002, 420: 868-874.
- [4] 张艳, 林玉璧. 噬细胞凋亡与动脉粥样硬化[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2008, 16(5): 406-408.
- [5] 崔淑华, 庾勤慧. 动脉粥样硬化中巨噬细胞凋亡与内质网应激机制[J]. *国际病理科学与临床杂志*, 2011, 31(4): 315-316.
- [6] Arai S, Shelton JM, Chen M, et al. A role for the apoptosis inhibitory factor AIM/Spa/Ap16 in atherosclerosis development [J]. *Cell Metab*, 2005, 1(3): 201-213.
- [7] 许金鹏, 刘福林, 刘洋, 等. 动脉粥样硬化斑块巨噬细胞凋亡与斑块易损性的关系[J]. *军医进修学院学报*, 2008, 29(4): 289-291.
- [8] 李方明, 郭毅, 孙圣刚, 等. JNK 信号通路在游离胆固醇诱导巨噬细胞凋亡中的作用[J]. *卒中与神经疾病*, 2008, 15(2): 106-107.
- [9] Comalada M, Xaus J, Villedor AF, et al. Celastrol APKC epsilon is involved in JNK activation that mediates LPS-induced TNF-alpha, which induces apoptosis in macrophages[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2003, 285(5): 1235-1245.
- [10] 吴伟, 刘煜德, 李荣, 等. 肺炎衣原体感染对动脉硬化斑块面积的影响及黄芩苷的干预作用[J]. *广州中医药大学学报*, 2006, (4): 322-324, 329.
- [11] 邝枣园, 吴伟, 黄衍寿, 等. 黄芩苷抗肺炎衣原体的研究[J]. *中国微生态学杂志*, 2005, 17(2): 87-88.
- [12] 刘煜德, 吴伟, 王嵩, 等. 肺炎衣原体对主动脉粥样硬化斑块的形成及稳定性的影响及黄芩苷的干预作用[J]. *时珍国医国药*, 2006, 17(12): 2377-2379.
- [13] 马珺, 吴晓东. 黄芩苷对动脉粥样硬化家兔的保护作用及其机制[J]. *中国临床药理学及治疗学*, 2008, 13(2): 18.
- [14] Venkateswaran A, Laffitte BA, Joseph SB, et al. Control of cellular cholesterol efflux by the nuclear oxysterol receptor LXR alpha[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(22): 12097-12102.
- [15] 万敬员, 叶笃筠, 吴萍, 等. 川芎嗪对脂多糖诱导巨噬细胞环氧酶-2 表达和心肌细胞凋亡的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2004, (10): 906-911.
- [16] Boisvert WA, Rose DM, Boullier A, et al. Leukocyte transglutaminase 2 expression limits atherosclerotic lesion size[J]. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, 2006, 26(3): 563-569.
- [17] Schrijvers DM, De Meyer GR, Herman AG, et al. Phagocytosis in atherosclerosis: Molecular mechanisms and implications for plaque progression and stability[J]. *Cardiovascular Research*, 2007, 73(3): 470-480.
- [18] 于昕, 刘向群, 陈焕芹, 等. 黄芩苷对动脉粥样硬化大鼠凝血酶激活纤溶抑制物水平及血脂、凝血纤溶指标的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2010, 30(22): 3299.
- [19] 李岩, 邝枣园, 王宏敏, 等. 黄芩苷对脂多糖诱导巨噬细胞一氧化氮和一氧化氮合酶表达的影响[J]. *广东医学*, 2010, 31(6): 675.

(编辑: 宋威)

康泰胶囊对大鼠 DRG 神经元上电压门控性钠通道 Nav1.8 受体的影响

陈冠林, 罗琦, 郝尧坤, 刘佳(广州中医药大学, 广东 广州 510405)

摘要: **目的** 观察康泰胶囊对 IBS 内脏高敏感性大鼠结肠背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)神经元 Nav1.8 通道受体的影响, 探讨康泰胶囊治疗 IBS 的作用机制。**方法** 采用慢性不可预计应激法建立内脏高敏感性 IBS 大鼠模型, 应用腹部回缩反射(AWR)、尿 D-木糖排泄实验、焦虑行为测试及血清皮质醇水平对模型内脏敏感程度进行评估, 采用实时荧光定量 PCR 方法检测大鼠 DRG 神经元上 Nav1.8 通道受体 mRNA 表达水平, 观察康泰胶囊对内脏高敏感 IBS 大鼠 DRG 神经元上 Nav1.8 通道受体 mRNA 表达水平的影响。**结果** 康泰胶囊可以明显降低模型大鼠 AWR 评分 ($P < 0.01$), 明显升高模型大鼠尿 D-木糖排泄率 ($P < 0.05$), 增加模型大鼠进入开臂次数和开臂滞留时间百分比($P < 0.01$), 显著降低血清皮质醇水平 ($P < 0.01$), 明显降低大鼠 DRG 神经元上 Nav1.8 通道受体 mRNA 表达水平 ($P < 0.01$)。**结论** 康泰胶囊能抑制应激引起的内脏高敏感 IBS 大鼠 DRG 神经元上的 Nav1.8 通道受体表达, 从而降低结肠背根神经元兴奋性, 是其治疗 IBS 的作用机制之一。

收稿日期: 2014-03-14

作者简介: 陈冠林, 男, 研究员, 研究方向: 中西医结合消化。Email: cheng1@gzucm.edu.cn。

基金项目: 广东省自然科学基金(S2012010010081)。

关键词：肠易激综合征；外周疼痛感觉神经元；电压门控性钠通道；Nav1.8 mRNA；康泰胶囊

中图分类号：R285.5 **文献标志码：**A **文章编号：**1003-9783(2014)04-0427-05

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.04.010

Effect of *Kangtai* Capsule on Voltage-gated Sodium Channel Nav1.8 in Dorsal Root Ganglion Neurons of Rats with Visceral Hypersensitivity

CHEN Guanlin, LUO Qi, HAO Yaokun, LIU Jia (Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China)

Abstract: Objective To observe the effect of *Kangtai* capsule on voltage-gated sodium channel Nav1.8 in dorsal root ganglion neurons of the rats with visceral hypersensitivity, and to investigate its therapeutic mechanism for irritable bowel syndrome (IBS). **Methods** The rat model of visceral hypersensitivity was established by chronic unpredicted mild stress, and the visceral sensitivity to colorectal balloon distention (CRD) was measured by abdominal withdrawal reflex (AWR) scores, D-xylose excretion rate, anxiety behavior testing and serum hydrocortisone level. Real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) was applied to measure Nav1.8 mRNA expression level. **Results** *Kangtai* capsule had obvious effect on decreasing AWR scores, elevating D-xylose excretion rate ($P < 0.01$), increasing the times for rat entering the open arms and the percentage of time staying in the open arms ($P < 0.01$), and decreasing serum hydrocortisone level and Nav1.8 mRNA expression level in the dorsal root ganglia of visceral hypersensitivity rats ($P < 0.01$). **Conclusion** *Kangtai* capsule has an effect on inhibiting Nav1.8 mRNA expression in colonic dorsal root ganglia of IBS rats with visceral hypersensitivity, thus to decrease neuronal excitability, which may be one of its therapeutic mechanism for IBS.

Keywords: Irritable bowel syndrome; Peripheral pain sensory neuron; Voltage-gated sodium channel; Nav1.8 mRNA; *Kangtai* capsule

肠易激综合征 (Irritable bowel syndrome, IBS) 是一种与胃肠功能改变有关，以慢性或复发性腹痛、腹泻、排便习惯和大便性状异常为主要症状而又缺乏胃肠道结构或生化异常的综合征。IBS 具有复杂的病理过程，与胃肠动力学异常、内脏高敏感性、肠道感染、精神因素及遗传因素等均有关，内脏敏感性增加被认为是主要发病机制^[1]。研究显示，电压门控性钠离子通道 (VGSC) 在介导外周疼痛感觉神经元自发兴奋中起到重要的作用^[2]。其中，Nav1.8 是感受神经元选择性钠离子通道，疼痛感受器动作电位产生的关键贡献者，在小型疼痛感受背根神经节 (dorsal root ganglion, DRG) 神经元上表达非常丰富，大部分结肠 DRG 神经元 Nav1.8 均表达阳性^[3]，因此，Nav1.8 在介导 DRG 神经元自发兴奋中起到关键的作用。

前期研究显示^[4]，康泰胶囊可以明显地改善 IBS 患者腹痛、腹胀、腹泻、心烦失眠、大便不尽感等临床症状，可以调整 IBS 患者异常的结肠动力及免

疫功能，能明显抑制应激引起的内脏高敏感 IBS 大鼠结肠背根神经元兴奋性增高。本研究采用慢性不可预计应激诱导内脏高敏感 IBS 大鼠模型，考察康泰胶囊对模型动物内脏敏感性的干预作用与调节结肠 DRG 神经元 Nav1.8 受体表达之间的关系，从而深入阐明康泰胶囊治疗 IBS 内脏高敏感性的作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物 SD 大鼠，SPF 级，体质量 100 ~ 120 g，雄性，由广东省医学实验动物中心提供，动物合格证号：SCXK (粤) 2008-0002。

1.2 药物、试剂及主要仪器 康泰胶囊 (每克含生药量 4.11)，广州中医药大学新药开发研究中心提供，批号：20121126；TRIZOL 试剂，Ivrogen 公司；FQ-PCR 试剂盒及 GAPDH 引物序列 (上游 5' -AGAACATCATCCCTGCATCC-3'，下游 5' -GCATGTCAGATCCACAATGG-3'，大小为 129bp) 和 Nav1.8 引物序列 (上游 5' -AGATATGGAGCAGGCTTC-3'，

下游 5' -GGCTATCCTTCCTCTTCC-3'，大小为 176 bp) 均由上海生工生物科技有限公司合成；焦碳酸二乙酯(DEPC)，上海生物工程技术公司；DEPC 处理水，上海赛百盛基因公司；cortisone Elisa 检测试剂盒，美国 R&D 公司。常用生化试剂均为国产分析纯。超净工作台，苏州净化设备工程有限公司；Real time 检测仪 ABI-step one，美国 ABI 公司；多功能酶标仪，美国 Bio-rad 公司。

1.3 分组、模型复制及给药 采用慢性不可预计条件应激法^[4]建立大鼠内脏高敏感动物模型，大鼠每天随机进行以下 3 种应激方法中的 1 种，60 min 避水应激，40 min，4℃冷束缚应激或者 20 min 强迫游泳应激，每天 1 次，连续 9 d。第 10 天进行内脏敏感性评估(AWR)，将复制成功的模型大鼠随机分为 2 组，模型组和康泰胶囊组 (6.06 g·kg⁻¹)，每组 10 只。另取 10 只大鼠作为正常组，自然喂养，不给予任何应激刺激。第 10 天开始给药治疗，正常组和模型组给予等容积蒸馏水，连续 2 周，之后进行 AWR 评估，焦虑行为分析和 D-木糖排泄率。麻醉腹主动脉取血，分离血清测定血清皮质醇含量。将大鼠断颈处死，在冰上迅速取下 L6~S2 脊髓背根神经节(距肛缘 1 cm，所取标本长度约为 1 cm)，将标本保存于 -70℃冰箱以备检测 Nav1.8 mRNA。

1.4 内脏敏感性评估^[4] 于模型复制及给药结束后，分别行球囊结直肠扩张实验 (colorectal distention, CRD)，由一独立的观察者进行腹部收缩反射 (abdominal withdrawal reflex, AWR) 评估，评估数据取均值。

1.5 焦虑行为测定 采用高架十字迷宫法检测焦虑相关行为。将大鼠置于高架十字迷宫中央区，头朝开臂。通过迷宫上方的摄像机同步视频观察 5 min 内大鼠的活动情况，记录大鼠进入开臂次数的百分比和开臂滞留时间百分比。

1.6 对溴苯胺法测定大鼠尿 D-木糖排泄率^[5] 大鼠禁食不禁水 12 h，每只大鼠灌胃 3% D-木糖溶液 4 mL，

收集 5 h 尿液(期间禁食不禁水)；每例取 0.5 mL 尿液样本，双蒸水稀释 10 倍后，加入 2% 对溴苯胺溶液 2.5 mL；取浓度为 1 mg·mL⁻¹ 的 D-木糖溶液，依次倍比稀释制作标准曲线；样本管和标准管置 70℃恒温水浴箱 10 min，室温放置 70 min，以分光光度计在波长为 520 nm 下检测。木糖排泄率=[(标准曲线所计算浓度×总尿量×尿液稀释倍数)/灌胃木糖溶液量]×100%。

1.7 血清皮质醇含量测定 采用 ELISA 法测定血清皮质醇含量，参照试剂盒说明书方法进行。

1.8 DRG 神经元 Nav 1.8 mRNA 的检测 用 TRIZOL 抽提总组织 RNA，按逆转录反应试剂盒步骤操作进行逆转录合成 cDNA，将制备好的 cDNA 进行实时 PCR 扩增。扩增体系为 SYBR Green Mix、上游和下游引物、ddH₂O、cDNA 模板。扩增条件：第一步，50℃预热 2 min；第二步，95℃预变性 5 min，1 个循环；第三步，95℃变性 15 s，60℃退火 45 s，共 40 个循环。反应结束后数据采用 RT-PCR 检测仪自带软件 (ABI Prism 7500 SDS Software) 分析 PCR 过程中各样本的周期阈值 (CT)。Nav 1.8 mRNA 相对表达量 = 2^{-Δct} × 100%，Δct = 目标基因 CT 值 - 内参 (GAPDH) CT 值。用 RNA 琼脂糖凝胶电泳法进行 RNA 完整性的鉴定。

1.9 统计学处理方法 数据以均数±标准差表示，应用 SPSS 13.0 统计学软件进行单因素方差分析和 χ² 检验。

2 结果

2.1 各组动物 AWR 评分比较 模型组在 2.67 kPa 和 5.34 kPa 压力下的 AWR 评分均显著升高，与正常组比较，差异有统计学意义 (P<0.01)，动物可耐受的最低压力值明显降低。与模型组比较，康泰胶囊治疗后，在 2.67 kPa 压力下的 AWR 评分明显降低 (P<0.01)，动物可耐受的最低压力值明显升高，结果见表 1。

2.2 各组动物尿 D-木糖排泄率比较 与正常组比较，模型组大鼠尿 D-木糖排泄率明显降低 (P<0.01)，

表 1 各组给药前后 AWR 评分比较 ($\bar{x} \pm s$, n=10)

Table 1 Comparison of AWR scores in different groups before and after medication

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	给药前 /kPa			给药后 /kPa		
		2.67	5.34	10.68	2.67	5.34	10.68
正常组	-	0.67 ± 0.28	1.39 ± 0.41	2.68 ± 0.45	0.73 ± 0.41	1.29 ± 0.54	2.70 ± 0.59
模型组	-	1.14 ± 0.76**	2.53 ± 0.39**	2.93 ± 0.48	1.25 ± 0.48**	2.60 ± 0.51**	2.87 ± 0.71
康泰胶囊组	6.06	1.18 ± 0.59	2.61 ± 0.48	2.91 ± 0.57	0.88 ± 0.45 ^{△△}	2.05 ± 0.49 [△]	2.32 ± 0.52

注：与正常组比较，**P<0.01；与模型组比较，[△]P<0.05，^{△△}P<0.01。

说明模型动物呈现明显的脾虚表现。与模型组比较,康泰胶囊治疗后,大鼠尿 D- 木糖排泄率明显升高($P < 0.05$),结果见表 2。

表 2 各组动物尿 D-木糖排泄率比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)
Table 2 Comparison of D-xylose excretion rate in different groups

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	D- 木糖排泄率 /%
正常组		21.58 ± 6.35
模型组	-	15.79 ± 2.87**
康泰胶囊组	6.06	18.80 ± 6.13 [△]

注:与正常组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, [△] $P < 0.05$ 。

2.3 各组动物焦虑行为表现 与正常组比较,模型组大鼠进入开臂次数百分比和开臂滞留时间百分比显著降低 ($P < 0.01$),提示模型组大鼠出现焦虑行为;与模型组比较,康泰胶囊组大鼠进入开臂次数百分比和开臂滞留时间百分比显著增加($P < 0.01$),提示康泰胶囊在该模型中有抗焦虑作用,结果见表 3。

表 3 各组大鼠进入开臂次数和开臂滞留时间百分比的比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)
Table 3 Comparison of anxiety behavior testing results in different groups

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	进入开臂次数百分比 /%	开臂滞留时间百分比 /%
正常组	-	41 ± 8	25 ± 9
模型组		26 ± 10**	16 ± 6**
康泰胶囊组	6.06	36 ± 7 ^{△△}	22 ± 7 ^{△△}

注:与正常组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, ^{△△} $P < 0.01$ 。

2.4 各组动物 DRG 神经元 Nav1.8 mRNA 表达水平及血清皮质醇含量比较 与正常组比较,模型组大鼠血清皮质醇含量显著升高($P < 0.01$),康泰胶囊组大鼠血清皮质醇含量显著降低($P < 0.01$),提示康泰胶囊在该模型中有抗焦虑作用。与正常组比较,模型组大鼠 DRG 神经元 Nav1.8 mRNA 表达水平显著升高($P < 0.01$),康泰胶囊组大鼠 DRG 神经元 Nav1.8 mRNA 表达水平显著降低($P < 0.01$),提示康泰胶囊能抑制 Nav1.8 mRNA 的表达,结果见表 4。

表 4 各组动物 DRG 神经元 Nav1.8 mRNA 表达水平及血清皮质醇含量比较($\bar{x} \pm s$, $n=10$)
Table 4 Comparison of Nav1.8 mRNA expression level and serum hydrocortisone level in different groups

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	血清皮质醇 /ng·mL ⁻¹	Nav1.8 mRNA/%
正常组	-	21.90 ± 6.09	2.79 ± 0.38
模型组	-	49.92 ± 10.27**	7.03 ± 1.87**
康泰胶囊组	6.06	29.65 ± 7.20 ^{△△}	3.68 ± 1.01 ^{△△}

注:与正常组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, ^{△△} $P < 0.01$ 。

3 讨论

大量研究显示,心理及环境应激因素导致的内脏敏感性增加是 IBS 发生发展的重要机制。内脏敏感性增高提示在外周和(或)中枢(包括脊髓和脊髓上)水平上感觉神经元的兴奋性增强^[6]。而电压门控钠通道(VGSC)在神经元动作电位的产生和传递过程以及细胞膜兴奋性的维持中起着极为重要的作用。VGSC 是一种 6 次跨膜的蛋白复合物,α 亚基为其基本功能单位。根据 α 亚基的结构特点,现已克隆出的 VGSCs 可分为 9 种亚型(Nav1.1-1.9),依据对河豚毒素(tetrodotoxin,TTX)的敏感性,又可分为河豚毒素敏感型(TTX-sensitive,TTX-S)和河豚毒素不敏感型(TTX-resistant,TTX-R)两种^[2]。VGSCs 亚型的分布具有发育和组织特异性,其中,Nav1.8 是疼痛感受器动作电位产生的关键贡献者,它是感受神经元选择性钠离子通道,在小型疼痛感受 DRG 神经元上表达非常丰富,大部分结肠 DRG 神经元 Nav1.8 均表达阳性。研究表明,Nav1.8 阳性神经元的增强性应答可导致痛觉过敏,异常性疼痛和进行性、自发性疼痛的发生^[7]。Nav1.8 敲除大鼠或 Nav1.8 缺失能够减少神经性疼痛模型的痛觉过敏或者异位性疼痛^[8]。在 TNBS 诱导的大鼠结肠炎内脏高敏感模型中发现,TNBS 可明显提高 TTX-R Na⁺ 电流密度,从而增强选择性 DRG 神经元神经兴奋性^[9]。在用直肠气囊扩张法所造成的肠道高敏感性大鼠模型中,大鼠 DRG 神经元 Nav1.8 mRNA 的表达较正常大鼠增加,当予以鞘内注射 Nav118 的反义寡核苷酸后,大鼠 Nav1.8 mRNA 表达下降,其肠道敏感性也降低^[10]。本研究采用慢性不可预计条件应激方法建立大鼠 IBS 内脏高敏感模型,与正常组比较,模型组大鼠在 2.67 kPa 和 5.34 kPa 压力下的 AWR 评分均显著升高 ($P < 0.01$),动物可耐受的最低压力值明显降低,尿 D-木糖排泄率明显降低($P < 0.01$),焦虑测试显示模型组大鼠进入开臂次数百分比和开臂滞留时间百分比显著降低 ($P < 0.01$),血清皮质醇含量显著升高($P < 0.01$),提示模型大鼠符合 IBS 内脏高敏感模型。同时,模型大鼠 DRG 神经元 Nav1.8 mRNA 表达水平显著升高,我们前期研究显示,采用不可预计应激方法建立的 IBS 内脏高敏感模型大鼠脊髓 DRG 神经元兴奋性增加。本研究提示 DRG 神经元 Nav1.8 mRNA 表达水平升高是该模型动物 DRG 神经元兴奋性增加的分子基础,也是该模型动物产生内脏高敏感的病理生理机制之一。与模型组比较,康泰胶囊治疗组

大鼠, AWR 评分明显降低, 尿 D-木糖排泄率显著增加。焦虑测试结果显示, 大鼠进入开臂次数百分比和开臂滞留时间百分比显著升高 ($P < 0.01$), 血清皮质醇含量显著降低 ($P < 0.01$), 提示康泰胶囊能够明显改善 IBS 内脏高敏感模型大鼠的内脏敏感性和焦虑程度。同时, 与模型组大鼠比较, 康泰胶囊治疗组大鼠 DRG 神经元 Nav1.8 mRNA 表达水平明显降低。从而说明降低 IBS 内脏高敏感模型动物 DRG 神经元 Nav1.8 mRNA 表达水平, 抑制 DRG 神经元兴奋性增加, 从而降低内脏敏感性是康泰胶囊治疗 IBS 内脏高敏感的作用机制之一。

参考文献:

- [1] Clarke G, Quigley EM, Cryan JF, et al. Irritable bowel syndrome: towards biomarker identification [J]. Trends in Molecular Medicine, 2009, 15(10): 478-489.
- [2] Wang W, Gu JG, Li YQ, et al. Are voltage-gated sodium channels on the dorsal root ganglion involved in the development of neuropathic pain [J]. Molecular Pain, 2011, 7: 16.
- [3] Qi FH, Zhou YL, Xu GY. Targeting voltage-gated sodium channels for treatment for chronic visceral pain [J]. World Journal of Gastroenterology, 2011, 17(19): 2357-2364.
- [4] 陈冠林, 韩棉梅, 梁嘉恺, 等. 康泰胶囊对肠易激综合征内脏高敏感性大鼠背根神经元兴奋性的影响[J]. 广州中医药大学学报, 2012, 29(1): 37-40.
- [5] 张翥, 马继伟, 李寅超. 溢尿停对实验性脾虚 SD 大鼠胃肠功能的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2004, 31(8): 703-704.
- [6] Ibeakanma C, Ochoa-Cortes F, Miranda-Morales M, et al. Brain-gut interactions increase peripheral nociceptive signaling in mice with postinfectious irritable bowel syndrome [J]. Gastroenterology, 2011, 141(6): 2098-2108.
- [7] Ruangsri S. Relationship of axonal voltage-gated sodium channel 1.8 (Nav1.8) mRNA accumulation to sciatic nerve injury-induced painful neuropathy in rats[J]. J Biol Chem, 2011, 286(46): 39836-39847.
- [8] Laird JM, Souslova V, Wood JN, et al. Deficits in visceral pain and referred hyperalgesia in Nav1.8-null mice[J]. J Neurosci, 2002, 22: 8352-8356.
- [9] 王亚雷, 姚玮艳, 章永平, 等. 电压门控钠通道亚单位在大鼠肠易激综合征模型中变化的研究[J]. 胃肠病学, 2006, 11(3): 143-147.
- [10] 王亚雷, 姚玮艳, 章永平, 等. 阻断 Nav1.8 表达对大鼠内脏高敏感性影响的研究[J]. 中华消化杂志, 2006, 26(2): 83-86.

(编辑: 宋威)

肾康灵对系膜细胞炎症因子的影响

艾斯^{1,2,3}, 郑健^{1,2,3}, 林青^{2,3}, 邱彩霞², 林雄², 宋艳芳^{2,3}(1. 福建中医药大学, 福建 福州 350122; 2. 福建中医药大学附属人民医院, 福建 福州 350004; 3. 福建省中西医结合肾脏病重点实验室, 福建 福州 350004)

摘要: 目的 观察氧化低密度脂蛋白(Oxidized Low-Density Lipoprotein, ox-LDL)对系膜细胞(Mesangial Cells, MCs)分泌炎症介质功能的影响, 并从细胞分子生物学水平阐明肾康灵的作用机理。**方法** 采用肾康灵含药血清干预增殖系膜细胞的方法, 按照随机数字表法分为 7 组, 即正常对照组: DMEM-F12 培养液; ox-LDL 组: DMEM-F12 培养液+ox-LDL ($100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$); ox-LDL+趋化因子受体(CXCR6)组: DMEM-F12 培养液+ox-LDL ($100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)+CXCR6; 肾康灵低浓度组: DMEM-F12 培养液+ox-LDL ($100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)+肾康灵低浓度含药血清; ⑤肾康灵高浓度组: DMEM-F12 培养液+ox-LDL ($100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)+肾康灵高浓度含药血清; 阿托伐他汀低浓度组: DMEM-F12 培养液+ox-LDL ($100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)+阿托伐他汀 ($50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$); 阿托伐他汀高浓度组: DMEM-F12 培养液+ox-LDL ($100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)+阿托伐他汀 ($100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。以上各组标本培养 24 h 后收集各组细胞及上清液。每组实验细胞重复培养 6 次。分别利用 ELISA 法、RT-PCR 法和 Western blot 法检测趋化因子配体 16 (CXCL16)、清道夫受体-B(CD36)、干扰素- γ (IFN- γ)、白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)基因水平和蛋白含量。**结果** 利用 ox-LDL ($100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)诱导大鼠系膜细胞增殖并加入 CXCR6 受体后, CXCL16、

收稿日期: 2013-11-14

作者简介: 艾斯, 女, 博士研究生, 研究方向: 小儿肾病。Email: ella-2002@163.com。通讯作者: 郑健, 主任医师, 教授, 研究方向: 小儿肾病。Email: zhengjian7816@126.com。

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(81202835); 福建省自然科学基金面上项目(2011J01199); 福建省卫生厅青年基金项目(2012-1-30)。