糖心平胶囊药效及急性毒性实验观察

李晓文 林 兰 倪 青 黄 达 王 泽

摘要 目的 通过进行糖心平胶囊对糖尿病模型大鼠的药效学研究及小鼠灌胃给药的急性毒性观察,探索糖心平胶囊的药效作用、急性毒性不良反应与小鼠灌胃给药的最大耐受量。**方法** 采用高脂饲料联合小剂量 STZ 注射造成 2 型糖尿病模型,随机分为糖心平高、中、低剂量、二甲双胍组及模型组,分组 6 周后,检测其空腹血糖(FBG)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、B 型钠尿肽(BNP)、胰岛素(INS)、血栓素 B₂(TXB₂)、内皮素(ET-1)、肌酸激酶同工酶(CKMB)、6 酮前列腺素(6KPG)的水平。采用最大给药浓度对实验小鼠进行一次性灌胃,连续观察 14 天,记录小鼠的毒性行为并计算糖心平胶囊口服给药的最大耐受量。**结果** 糖心平胶囊能明显降低糖尿病大鼠 FBG、TG、TC、BNP、INS、TXB₂、ET-1、CKMB 水平,同时使 6KPG 明显升高。急性毒性实验中小鼠未出现明显的毒性不良反应及死亡,测出其最大给药浓度为 0.18g/ml,相当于成人每日推荐用药剂量的 360 倍。**结论** 糖心平胶囊能一定程度的调节糖脂代谢,同时改善循环发挥心脏保护的作用,本研究中小鼠未出现明显毒性不良反应及死亡,说明糖心平胶囊的毒性较低,在推荐剂量下使用较为安全。

关键词 糖心平胶囊 药效 急性毒性实验 最大耐受量

中图分类号 R587.1

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2020.11.017

Experimental Observation on Efficacy and Acute Toxicity of Tangxinping Capsule. Li Xiaowen, Lin Lan, Ni Qing, et al. Guanganmen Hospital of Chinese Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100053, China

Abstract Objective To study the pharmacodynamics of Tangxinping capsule on diabetic rats and observe the acute toxicity of Tangxinping capsule in mice. to explore the efficacy, acute toxicity and maximum tolerance of Tangxinping capsule in mice. **Methods** The model of type 2 diabetes was induced by high fat diet combined with low dose STZ. The rats were randomly divided into high, middle and low dose Tangxinping group, metformin group and model group. The levels of fasting blood glucose (FBG), triglyceride (TG), total cholesterol (TC), B - type natriuretic peptide (BNP), insulin (INS), thromboxane B₂ (TXB₂), endothelin (ET - 1), creatine kinase isoenzyme (CKMB) and 6 - keto - prostacyclin (6KPG) were measured. The experimental mice were intragastrically administered with the maximum concentration and observed continuously for 14 days. The toxic behavior of mice was recorded and the maximum tolerance dose of Tangxinping capsule was calculated. **Results** Tangxinping capsule could significantly reduce the levels of FBG, TG, TC, BNP, INS, TXB₂, ET - 1 and CKMB, and increase 6KPG in diabetic rats. In the acute toxicity test, there was no obvious toxic reaction and death in mice, and the maximum concentration was 0.18g/ml, which was 360 times of the recommended daily dose for adults. **Conclusion** Tangxinping capsule may have a certain effect on regulating glucose and lipid metabolism, and can also play an obvious role in antithrombosis and cardiac protection. In this study, there was no obvious toxic reaction and death in mice. It shows that Tangxinping capsule has relatively low toxicity and is safe to use at the recommended dose.

Key words Tangxinping capsule; Efficacy; Acute toxicity test; Maximum tolerance dose

糖心平胶囊(tangxinping capsule, TXPC)是由中国中医科学院广安门医院内分泌科主任医师、首席研究员林兰根据其多年临床经验,在观察和总结了糖尿病心脏病基本病机的基础上,研制出的具有益气养阴、活血化瘀作用的中药制剂,用于糖尿病心脏病的治疗。TXPC 组方以黄芪、太子参、五味子、水蛭、香加皮

等为主。前期研究证实, TXPC 具有良好的改善糖尿病心脏病心肌细胞能量代谢及血液流变,抗心肌纤维化等作用。为进一步扩大 TXPC 的临床应用,本研究通过进行糖心平胶囊的药效研究及急性毒性实验,确定其药效及安全用药范围,为临床治疗提供参考。

材料与方

1. 药品: TXPC 药粉(中国中医科学院广安门医院新药研发办公室提供,生产批次:20181110)、蒸馏水(用于实验中药液配置)。盐酸二甲双胍(格华止)由中美上海施贵宝制药有限公司生产,500 毫克/片

基金项目:北京市科技计划项目(Z151100003815022)

作者单位:100053 北京,中国中医科学院广安门医院

通讯作者:林兰,电子邮箱:linlan05@163.com

×20片/盒,生产批号:国药准字 H20144480。

2. 动物:SPF级雄性SD大鼠90只,体质量160±20g,由北京华阜康生物科技股份有限公司提供[实验动物许可证号SCXK(京):2016-0001],实验前先用普通饲料适应性饲养1周。SPF级健康昆明种小鼠,体质量18~20g,雌雄各半共40只,由北京华阜康生物科技股份有限公司提供[实验动物许可证号SCXK(京):2019-0008],普通清洁维持饲料喂养,以上动物均饲养于中国中医科学院广安门医院SPFⅡ级实验动物中心。饲养环境:通风良好、光照规律(各12h)、环境清洁(SPF清洁设施)、温、湿度稳定(温度22±2℃、湿度40%~70%)、标准动物饮用水。

3. 试剂及仪器:脲佐菌素(streptozotocin, STZ)(美国Sigma公司)、无水柠檬酸钠、无水柠檬酸;AB135-S型电子天平(瑞士METTLER公司)、AccU-Chek Active血糖仪(GB型)、灌胃针、滤纸、pH试纸。

4. TXPC药效学实验:取上述SD大鼠90只,在适应性饲养1周后,随机分为正常饮食组10只和高脂饲料饮食组80只,高脂饲料(北京华阜康生物科技股份有限公司提供,配料:68%常规饲料、10%蔗糖、10%蛋黄粉、10.1%猪油、1.5%胆固醇、0.4%胆酸盐),各组大鼠分别喂养4周后,高脂饮食组大鼠一次性予35mg/kg STZ(使用2.1%的柠檬酸与2.94%的柠檬酸按照1:1.32的比例制备成缓冲液,pH4.2~4.5)腹腔注射,正常饮食组大鼠予35mg/kg柠檬酸缓冲液腹腔注射。STZ注射72h后(禁食12h)尾静脉采血测定FBG水平,FBG≥11.1mmol/L,即认为T2DM模型成功,按照此标准高脂组有60只大鼠造模成功。将上述造模成功的大鼠,按照血糖值随机分成模型组、糖心平高、中、低剂量组及二甲双胍组,每组各12只。正常对照组大鼠10只。分组后连续给药6周,每周测1次体质量,按照体质量计算灌胃量(按照7倍体表面积折算法)。正常对照组(Normal组):每日0.9%NaCl溶液1ml/100g灌胃;模型对照组(Model组):每日0.9%NaCl溶液1ml/100g灌胃,以上两组均使用普通饲料自由饮水;糖心平低剂量组(TXPD组):每日0.21g/kgTXPC药粉水溶液水1ml/100g灌胃,相当于成人每日给药剂量的3.5倍;糖心平中剂量组(TXPZ组):每日0.42g/kgTXPC药粉水溶液水1ml/100g灌胃,相当于成人每日给药剂量的7倍;糖心平高剂量组(TXPG组):每日0.84g/kgTXPC药粉水溶液水1ml/100g灌胃,相当于成人每日给药剂量的14倍;二甲双胍组(Met组):每日0.15g/kg

二甲双胍药粉水溶液水1ml/100g灌胃。上述4组大鼠均使用高脂饲料喂养同时自由饮水。

5. TXPC急性毒性实验:最大给药量预实验:取上述小鼠40只,雌雄各半,禁食不禁水12h后按体质量随机分为给药组和对照组,雌雄分开10只一笼饲养。取TXPC生药药粉溶解于蒸馏水中,按照灌胃针可吸取的最大液体浓度测得最大给药浓度为0.18g/ml。采用0.18g/ml的浓度TXPC药粉溶液,按照0.4ml/10g的最大给药量,对给药组小鼠进行一次性灌胃,对照组给同等体积的蒸馏水灌胃,观察7天。最大给药量正式实验:取上述小鼠40只,禁食不禁水12h后按体质量随机分为给药组和对照组,每组20只,雌雄各半,10只一笼饲养。给药组采用最大给药浓度0.18g/ml的药液,按照0.4ml/10g小鼠体质量的最大给药量进行灌胃,灌胃给药3次,间隔8h,对照组按照同样的方法,每次给予同等体积的蒸馏水灌胃。最后1次给药2h后,恢复正常饮食,连续观察14天。

6. 毒性实验观察方法:各组灌胃给药后,雌雄分开每笼10只,正常饲养。最后一次给药后2h内,每15min观察1次;给药后2~4h内,每30min观察1次;给药后4~8h内,每1h观察1次;给药后8~24h内,每4h观察1次;给药后第2天起,每天观察1次,称取体质量及进食量,密切观察各小鼠的呼吸和运动状态等,记录观察周期之内可能出现的毒性不良反应和死亡情况。对死亡和实验结束时存活小鼠进行大体剖检,肉眼观察各脏器有无异常,如有肉眼可见病变,进行组织病理学检查。

7. 统计学方法:采用SPSS 24.0统计学软件对数据进行统计分析,计量资料使用Shapiro-Wilk进行正态分布检验。符合正态分布的计量资料使用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示;采用Levene法对数据进行方差齐性检验,满足方差齐者,使用单因素方差分析进行组间总体比较;LSD法或独立样本t检验进行两两组间比较。非正态分布的计量资料用Kruskal-Wallis法进行组间总体比较,再用Mann-Whitney U检验法进行组间两两比较,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. TXPC药效实验结果

(1)TXPC对T2DM大鼠血糖的影响:糖心平胶囊治疗4周后,与模型组比较,糖心平高剂量组及二甲双胍组血糖明显下降,差异有统计学意义($P < 0.01$)。6周时,与模型组比较,各组血糖均有不同程度的下降,差异有统计学意义($P < 0.05$,表1)。

表 1 糖心平对 T2DM 大鼠血糖的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	给药量	0 周 (mmol/L)	2 周 (mmol/L)	4 周 (mmol/L)	6 周 (mmol/L)
对照组	10	-	6.10 ± 0.85	5.86 ± 0.67	6.20 ± 1.00	5.92 ± 1.26
模型组	12	-	16.25 ± 1.60*	16.87 ± 1.57*	17.93 ± 2.53*	18.20 ± 2.16*
TXPD	12	0.21	16.81 ± 2.07	17.58 ± 2.37	16.40 ± 2.02	16.15 ± 2.68 [#]
TXPZ	12	0.42	16.23 ± 2.15	16.94 ± 1.40	16.36 ± 2.02	15.76 ± 2.06 [#]
TXPG	12	0.84	16.20 ± 1.34	15.78 ± 1.20	15.37 ± 2.10 ^{##}	14.81 ± 2.44 ^{##}
二甲双胍组	12	0.15	16.39 ± 1.72	13.90 ± 1.80 ^{##}	12.19 ± 1.19 ^{##}	10.04 ± 2.09 ^{##}

与对照组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$

(2) TXPC 对 T2DM 大鼠 TG、TC、INS、TXB₂ 的影响: 治疗后糖心平中、高剂量组及二甲双胍组 TG、TC 均显著降低; 糖心平高剂量组 INS 水平明显下降且治

疗后糖心平各组的 TXB₂ 水平下降明显, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 表 2)。

表 2 糖心平对 T2DM 大鼠 TC、TG、INS、TXB₂ 的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TG (mmol/L)	TC (mmol/L)	INS (IU/ml)	TXB ₂ (pg/ml)
对照组	10	0.95 ± 0.20	1.34 ± 0.08	17.47 ± 3.66	40.40 ± 4.99
模型组	12	1.53 ± 0.20*	1.60 ± 0.12*	27.80 ± 8.49*	57.04 ± 6.19*
TXPD	12	1.40 ± 0.17	1.47 ± 0.11 [#]	25.24 ± 7.21	50.49 ± 8.67 [#]
TXPZ	12	1.37 ± 0.13 [#]	1.46 ± 0.10 ^{##}	23.43 ± 5.99	50.13 ± 4.46 [#]
TXPG	12	1.34 ± 0.13 [#]	1.44 ± 0.09 ^{##}	21.15 ± 6.65 [#]	48.76 ± 4.51 ^{##}
二甲双胍组	12	1.21 ± 0.10 ^{##}	1.44 ± 0.11 ^{##}	19.92 ± 4.59 [#]	53.30 ± 6.86

与对照组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$

(3) TXPC 对 T2DM 大鼠 ET-1、BNP、CKMB、6KPG 的影响: 糖心平胶囊治疗后各组 ET-1 水平均明显降低, 其中高剂量组降低作用尤为显著 ($P < 0.01$);

与模型组比较, 糖心平中、高剂量组 BNP ($P < 0.01$) 及 CKMB ($P < 0.05$) 水平均明显降低; 其中糖心平高剂量组及二甲双胍组 6KPG 明显降低 ($P < 0.05$, 表 3)。

表 3 糖心平对 T2DM 大鼠 ET-1、BNP、CKMB、6KPG 的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	ET-1 (ng/ml)	BNP (pg/ml)	CKMB (U/L)	6KPG (pg/ml)
对照组	10	0.23 ± 0.10	59.80 ± 13.08	916.00 ± 201.16	0.83 ± 0.10
模型组	12	0.60 ± 0.09*	145.57 ± 15.05*	1551.00 ± 125.65*	0.68 ± 0.08*
TXPD	12	0.48 ± 0.12 [#]	126.87 ± 22.16	1384.40 ± 117.48	0.72 ± 0.07
TXPZ	12	0.48 ± 0.12 [#]	120.87 ± 19.06 ^{##}	1379.70 ± 184.64 [#]	0.75 ± 0.06
TXPG	12	0.46 ± 0.11 ^{##}	116.85 ± 19.83 ^{##}	1349.56 ± 170.65 [#]	0.78 ± 0.09 [#]
二甲双胍组	12	0.41 ± 0.08 ^{##}	125.65 ± 20.30 [#]	1416.75 ± 158.92	0.79 ± 0.10 ^{##}

与对照组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$

2. TXPC 急性毒性实验结果

(1) 预实验结果: 在末次给药后连续观察的 7 天内, 对照组动物一般状态良好, 未见由于灌胃引起的异常症状; 给药组小鼠出现轻度的恶心、怠动的症状, 2h 后症状基本消失, 一般状态良好, 未出现动物死亡, 故以该最大浓度进行最大给药量实验。

(2) 最大给药量实验结果: 本研究给药日及药后连续观察 14 天, 实验当天给药组动物出现一定程度的倦怠和俯卧不动症状, 2h 后症状基本消失。对照组动物一般状态良好, 详见表 4。

(3) 小鼠体重测定结果: 实验期间各组动物体重质量均匀增长, 组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$, 表 5)。

(4) 小鼠进食量测定结果: 实验期间给药组及对照组小鼠的进食及饮水活动未见明显异常, 各组当日及总体进食量间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$, 表 6)。

(5) 大体解剖结果: 各组小鼠在实验期间一般情况良好, 未出现明显毒性不良反应及死亡。实验结束后对正常存活的小鼠进行大体解剖, 肉眼可见心脏、

表4 毒性实验观察指标及小鼠行为记录

毒性观察项目	小鼠行为及体征
中枢系统	给药组末次给药后2h内小鼠活动稍有减少、倦怠蜷卧,2h后恢复;其余小鼠反应灵敏,状态活跃,未见异常
自主神经系统	目光明亮有神、无异常常分泌物,瞳孔正圆无异常常肌张力正常、反应灵敏、运动协调,无抽搐
心血管系统	心搏正常、均匀有力
呼吸系统	呼吸均匀、流畅、平稳、胸廓运动适中
消化系统	进食正常、腹部平坦,未见消瘦,大便干湿适中
生殖系统	阴部未见异常
皮肤及毛发	皮毛光滑、润泽、稠密,耳部及吻部皮肤红润

表5 最大给药量实验各组小鼠体质量记录($\bar{x} \pm s, g$)

组别	性别	n	第1天	第2天	第3天	第4天	第5天	第6天	第7天	第10天	第14天
对照组		10	23.092 ± 0.467	24.789 ± 0.893	25.500 ± 0.886	27.022 ± 1.134	27.534 ± 1.190	28.050 ± 1.208	29.405 ± 1.562	30.459 ± 1.536	31.880 ± 1.443
给药组	雌	10	22.968 ± 1.030	23.900 ± 1.604	24.853 ± 1.321	25.874 ± 1.396	26.784 ± 1.042	27.324 ± 1.421	28.581 ± 1.377	29.239 ± 1.676	30.487 ± 1.510
对照组		10	23.388 ± 0.665	25.661 ± 1.169	26.823 ± 1.163	28.513 ± 1.174	31.403 ± 1.574	32.705 ± 1.863	34.203 ± 2.058	35.564 ± 2.387	35.771 ± 2.487
给药组	雄	10	23.166 ± 0.755	25.135 ± 1.112	27.919 ± 1.310	27.919 ± 1.310	30.639 ± 1.295	31.528 ± 2.142	33.349 ± 1.724	35.293 ± 1.859	34.981 ± 2.216

表6 最大耐受量实验小鼠进食量记录($\bar{x} \pm s, g$)

组别	n	第1天	第3天	第7天	第10天	第14天
给药组	20	57.600 ± 0.141	61.500 ± 4.101	57.360 ± 10.097	58.840 ± 11.229	58.100 ± 10.663
对照组	20	62.450 ± 4.031	60.425 ± 1.237	56.245 ± 7.840	57.030 ± 8.103	56.640 ± 7.976

肝脏、脾脏、肺、肾脏颜色、大小、形态均正常,未见大体外观改变。

(6)最大耐受量计算结果:糖心平胶囊给药小鼠24h内灌胃3次,每日最大给药量可达到21.6g/kg,相当于成人每日推荐用药剂量的360倍,未发现药物引起的明显毒性不良反应及死亡。

讨 论

糖尿病心脏病是独立于高血压、脂代谢紊乱、冠心病等外由慢性血糖升高所引起的心脏病变,占据了糖尿病患者死亡的主要原因^[1]。研究发现,早在糖尿病确诊以前轻度的血管并发症就可能已经出现,甚至空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)每升高1mmol/L就会使出现远期心血管事件的危险性增加17%^[2,3]。此外,无论既往是否有过心血管事件,高血糖的持续存在都会增加心血管事件的风险,并且使已经存在的心血管病变进一步发展^[4]。因此,早期诊断、及时干预、合理控制血糖对于糖尿病心脏病的治疗十分关键。

目前在糖尿病心脏病的治疗方面,主要通过控制血糖,调节心肌细胞能量代谢,改善脂代谢紊乱,保护心肌细胞功能等方面发挥协同效应,尚无针对性用药,对于心功能的改善与保护仍需更多的探索^[5]。中医药以其多靶点,整体治疗的特性,结合中医学对糖尿病心脏病的病因及病机认识,或可成为治疗糖尿

病心脏病的有效途径之一^[6]。

糖心平胶囊为首都名医林兰教授根据其临床经验研制,用于改善和治疗糖尿病心脏病的中成药,其主要成分为黄芪、太子参、水蛭、五味子、香加皮等,具有益气养阴、活血化瘀的作用。林兰教授认为,糖尿病心脏病隶属于“胸痹”的范畴,为消渴病日久,心脏气阴两虚,血脉瘀阻所致,其病程较长,虚实夹杂^[8]。前期临床研究证实,TXPC具有调节血糖、血脂、改善血液流变、增加心肌营养的作用^[8,9]。前期动物实验研究表明,TXPC能降低实验动物的ANP、血管紧张素I、II水平,下调AT1RmRNA的表达,同时降低心肌组织中糖基化终产物特异性受体(receptor of advanced glycation end productions, RAGE)的表达水平,减少糖基化终产物沉积对糖尿病大鼠心肌组织的损伤,通过多种途径减轻心肌病变,抗心肌纤维化,抑制和延缓糖尿病心脏病的发生与发展^[10,11]。

本研究通过进行TXPC的药效研究,发现其具有良好的调节糖脂代谢、抗血栓、保护心脏的作用,为进一步探索其应用及机制研究提供了方向。急性毒性实验中在最大给药量下,给药组小鼠未出现死亡,也未见到明显的毒性不良反应,给药组小鼠在给药后出现短暂的倦怠和俯卧不动但2h后缓解,考虑可能与灌胃所造成的机械刺激,同时中药药粉在溶解后具有

一定的异常气味有关,可能会引起小鼠短暂的胃肠不适,由于该情况可自行缓解,并且并未造成其体质量、进食量及脏器的显著性异常,不考虑为毒性不良反应。本研究中 TXPC 小鼠灌胃的最大耐受量可达到成人每日推荐用药剂量的 360 倍,说明了其毒性不良反应较小,临床用药相对安全。

参考文献

- 1 Jia G, Hill MA, Sowers JR. Diabetic cardiomyopathy an update of mechanisms contributing to this clinical entity [J]. *Circulation Research*, 2018, 122(4): 624 - 638
- 2 Dal Canto E, Ceriello A, Rydén L, *et al.* Diabetes as a cardiovascular risk factor: an overview of global trends of macro and micro vascular complications [J]. *Eur J Prev Cardiol*, 2019, 26: 25 - 32
- 3 Anand SS, Dagenais GR, Mohan V, *et al.* Glucose levels are associated with cardiovascular disease and death in an international cohort of normal glycaemic and dysglycaemic men and women: the epidream cohort study [J]. *Eur J Prev Cardiol*, 2012, 19: 755 - 764
- 4 Juutilainen A, Lehto S, Ronnema T, *et al.* Type 2 diabetes as a 'coronary heart disease equivalent': an 18 - year prospective popula-

tion - based study in Finnish subjects [J]. *Diabetes Care*, 2005, 28: 2901 - 2907

- 5 Paolillo S, Marsico F, Prastaro M, *et al.* Diabetic cardiomyopathy: definition, diagnosis and therapeutic implications [J]. *Heart Fail Clin*, 2019, 15: 341 - 347
- 6 赵双, 杜平. 糖尿病心脏病的病因及病机认识 [J]. *世界最新医学信息文摘*, 2016, 18(16): 83 - 84
- 7 王洪武, 倪青. 林兰治疗糖尿病合并冠心病的辨治思路 [J]. *中华中医药杂志*, 2009, 3(24): 334 - 336
- 8 林兰, 张润云, 倪青. 糖心平治疗糖尿病冠心病的临床研究 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2000, 7(8): 46 - 48
- 9 季学清, 陈宝瑾, 方邦江. 糖心平治疗糖尿病冠心病的临床观察 [J]. *光明中医*, 2004, 6(29): 1178 - 1180
- 10 张润云, 林兰, 倪青. 糖心平对实验性糖尿病大鼠心肌保护作用的研究 [J]. *北京中医药*, 2009, 1(28): 63 - 66
- 11 李敏, 倪青, 楚小燕. 糖心平胶囊对糖尿病大鼠心肌超微结构、血管紧张素 II 及其 I 型受体的影响 [J]. *中西医结合学报*, 2018, 6(11): 1165 - 1168

(收稿日期: 2019 - 12 - 02)

(修回日期: 2020 - 01 - 13)

调控 TGF - β 1/Smad4 通路对宫颈癌 SiHa 细胞自噬基因 p62 的影响

杨子霖 王志莲

摘要 目的 探究调控 TGF - β 1/Smad4 通路对宫颈癌 SiHa 细胞自噬基因 p62 的影响。方法 对数生长期的宫颈癌 SiHa 细胞加入不同浓度的 TGF - β 1 和 SIS3 干预 24h 后收取细胞,分别检测在 mRNA 及蛋白水平上自噬基因 p62 表达量的变化。结果 TGF - β 1 作用 SiHa 细胞 24h 后,随着浓度升高,p62 mRNA 及蛋白的表达量逐渐降低($P < 0.05$)。SIS3 作用 SiHa 细胞 24h 后,随着浓度升高,p62 mRNA 及蛋白的表达量逐渐增高($P < 0.05$)。结论 外源性的 TGF - β 1/Smad4 通路激活剂 TGF - β 1 可使宫颈癌 SiHa 细胞自噬蛋白 p62 mRNA 及蛋白的表达量降低,诱导宫颈癌 SiHa 细胞发生自噬;外源性的 TGF - β 1/Smad4 通路抑制剂 SIS3 可使宫颈癌 SiHa 细胞自噬蛋白 p62 mRNA 及蛋白的表达量升高,抑制宫颈癌 SiHa 细胞发生自噬;且随 TGF - β 1 和 SIS3 浓度的增加,p62 表达量出现变化,具有一定的浓度依赖性。

关键词 TGF - β 1/Smad4 子宫颈癌 细胞自噬 p62

中图分类号 R71, R73

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2020.11.018

Effect of Regulating TGF - β 1/Smad4 Pathway on Cervical Cancer SiHa Cell Autophagy Gene p62. Yang Zilin, Wang Zhilian. Department of Gynaecology and Obstetrics, The Second Hospital of Shanxi Medical University, Shanxi 030001, China

Abstract Objective To investigate the effect of regulating TGF - β 1/Smad4 pathway on cervical cancer SiHa cell autophagy gene p62. **Methods** The cervical cancer SiHa cells in the logarithmic growth phase were added with different concentrations of TGF - β 1 and SIS3, and the cells were collected after 24 hours of intervention. The changes of the expression of autophagy gene p62 at the mRNA and

基金项目:山西省卫生和计划生育委员会科研基金资助项目(201601046);山西医科大学第二医院博士基金资助项目(201701 - 8)

作者单位:030001 太原,山西医科大学(杨子霖);030001 太原,山西医科大学第二医院妇产科(王志莲)

通讯作者:王志莲,主任医师,电子信箱:ZL2009wang@163.com