

## 6种抗肿瘤中药注射液对卵巢癌细胞中 ATF3 mRNA 表达的影响

张湘奇<sup>1</sup>, 陈君君<sup>2</sup>, 杨姣<sup>1,2</sup>, 石美智<sup>2</sup>, 祁美娟<sup>3</sup>, 肖霄<sup>2</sup>, 韩永龙<sup>1,2\*</sup>

(1. 上海交通大学附属第六人民医院药剂科, 上海 200233; 2. 上海健康医学院附属第六人民医院东院药剂科, 上海 201306; 3. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306)

**摘要:** **目的** 考察消癌平注射液、艾迪注射液、华蟾素注射液、复方苦参注射液、斑蝥酸钠维生素 B<sub>6</sub> 注射液、参芪扶正注射液对卵巢癌细胞 A2780、SK-OV-3 中转录激活因子 3 (ATF3) mRNA 表达的影响。**方法** 6 种不同浓度中药注射液作用于卵巢癌细胞 24 h 后, MTT 法、RT-PCR 法分别检测细胞增殖率、ATF3 mRNA 表达。**结果** 各中药注射液均有抑制卵巢癌细胞增殖的作用, 并呈浓度依赖性。其中, 华蟾素注射液可在抑制细胞增殖的同时抑制 ATF3 mRNA 表达, 斑蝥酸钠维生素 B<sub>6</sub> 注射液显著上调该因子 mRNA 表达, 一定浓度消癌平注射液、艾迪注射液、复方苦参注射液、参芪扶正注射液对其 mRNA 表达也呈下调作用。**结论** 6 种抗肿瘤中药注射液对卵巢癌细胞中 ATF3 mRNA 表达有抑制或诱导作用, 其机制可能与中药活性成分影响肿瘤发展和转移有关。

**关键词:** 抗肿瘤中药注射液; 转录激活因子 3 (ATF3); 卵巢癌细胞

**中图分类号:** R285.5

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-1528(2019)04-0779-06

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.04.013

## Effects of six anti-tumor Chinese herbal injections on ATF3 mRNA expression in ovarian cancer cells

ZHANG Xiang-qi<sup>1</sup>, CHEN Jun-jun<sup>2</sup>, YANG Jiao<sup>1,2</sup>, SHI Mei-zhi<sup>2</sup>, QI Mei-juan<sup>3</sup>, XIAO Xiao<sup>2</sup>, HAN Yong-long<sup>1,2\*</sup>

(1. Department of Pharmacy, The Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200233, China; 2. Department of Pharmacy, East Campus of the Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai University of Medicine & Health Sciences, Shanghai 201306, China; 3. College of Food Sciences & Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

**KEY WORDS:** anti-tumor Chinese herbal injections; activated transcription factor 3 (ATF3); ovarian cancer cells

卵巢癌是女性生殖系统肿瘤中发病率第二、致死率第一的恶性肿瘤<sup>[1]</sup>, 目前临床治疗常为手术加化疗, 而国内将抗肿瘤中药注射液与化疗药物联用<sup>[2-4]</sup>以协同增强抗肿瘤效果, 提高机体免疫功能。中药可作用于肿瘤发生发展多个环节, 具有安全性高、价格低廉、不良反应少等优点, 中药注射

剂治疗恶性肿瘤时, 无论是在减轻临床症状、防止复发转移、延长生存期、提高生存质量, 还是在与化疗配合、增效减毒等方面都呈现出较好的疗效<sup>[5]</sup>, 但其种类繁多, 成分复杂, 抗癌机制不明, 从而限制了合理应用。

转录激活因子 3 (ATF3) 是转录因子 ATF/

**收稿日期:** 2018-06-22

**基金项目:** 国家自然科学基金项目 (81773949); 上海市卫生和计划生育委员会科研课题青年项目 (20174Y0023); 上海健康医学院种子基金项目 (HMSF-17-22-018, HMSF-17-22-020); 浦东新区卫生计生科技项目 (PW2017E-2); 浦东新区民生科研专项资金 (PKJ2017-Y07)

**作者简介:** 张湘奇 (1994—), 女, 硕士生, 研究方向为中药药理学。Tel: 18817376179, E-mail: abigialzhang@163.com

\* **通信作者:** 韩永龙, 博士, 主任药师, 博士生导师, 研究方向为临床药理学、药物代谢与药物动力学。Tel: (021) 38297199, E-mail: yonglongh@126.com

CERB 家族成员之一, 在肿瘤细胞增殖、凋亡、转移方面起着重要作用<sup>[6]</sup>, 近年来有研究者提出可将其作为抗肿瘤药物新靶点<sup>[7]</sup>。本实验选取临床常用的 6 种抗肿瘤中药注射液 (消癌平注射液、艾迪注射液、华蟾素注射液、复方苦参注射液、斑蝥酸钠维生素 B<sub>6</sub> 注射液、参芪扶正注射液), 评价其对 2 种卵巢癌细胞 A2780、SK-OV-3 增殖的抑制作用及细胞中 ATF3 mRNA 表达的影响, 从而筛选通过作用于 ATF3 来影响肿瘤生长和转移的中药注射剂, 对相关抗癌机制研究有重要意义。

## 1 材料

1.1 试药 消癌平注射液 (南京圣和药业有限公司, 每支 20 mL, 每 1 mL 含 1 g 通关藤, 批号 201709111); 艾迪注射液 (贵州益佰制药股份有限公司, 每支 10 mL, 批号 20160833); 华蟾素注射液 (安徽华润金蟾药业股份有限公司, 每支 5 mL, 每 1 mL 含 0.5 g 干蟾皮, 批号 61206-1); 复方苦参注射液 (山西振东制药股份有限公司, 每支 5 mL, 每 1 mL 含 2 g 苦参, 批号 20170304); 斑蝥酸钠维生素 B<sub>6</sub> 注射液 (贵州柏强制药有限公司, 每支 10 mL, 每 1 mL 含 0.1 mg 斑蝥酸钠, 批号 2016080602); 参芪扶正注射液 (丽珠集团利民制药厂, 每瓶 250 mL, 批号 20170511)。胎牛血清 (批号 1932562)、0.25% 胰蛋白酶 (批号 1951049)、青霉素-链霉素溶液 (批号 15140-122) (美国 Gibco 公司); DMEM 高糖培养基 (批号 AD17628284)、McCOY' 5A 培养基 (批号 AC13430279) (美国 HyClone 公司); 噻唑蓝 MTT (批号 303H0528) (北京索莱宝科技有限公司); 曲格列酮 (美国 Cayman 公司, CAS 号 97322-87-7, 货号 71750); RNA isolater Total RNA Extraction Reagent (货号 R401-01, 批号 7E141K7)、HiScript II Q RT SuperMix for qPCR (+gDNA wiper) (货号 R223-01, 批号 7E140L7)、ChamQ SYBR qPCR Master Mix (High ROX Premixed) (货号 Q341-02, 批号 7E170L7) (南京诺唯赞生物科技有限公司)。

1.2 细胞株 人卵巢癌细胞系 A2780, 购自北京北纳创联生物技术研究院; 人卵巢癌细胞系 SK-OV-3, 购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库。

1.3 仪器 生物安全柜 (新加坡艺思高科技有限公司, 型号 Class II BSC); 二氧化碳培养箱 (日本 Panasonic 公司, 型号 MCO-18AIC); 电子分析天平 (瑞士梅特勒-托利多公司, 型号 ME203); 台式低

温离心机 (美国 Beckman 公司, 型号 Microfuge 20R); 多功能酶标仪 (奥地利 Molecular Devices 公司, 型号 Spectra Max i3x); 定量 PCR 仪 (美国 ABI 公司, 型号 Pro Flex); 实时荧光定量 PCR 仪 (美国 Roche 公司, 型号 Light Cyclor 480II)。

## 2 方法

2.1 细胞株培养 A2780 细胞培养于含 10% 胎牛血清、1% 青霉素-链霉素溶液 (两者终浓度分别为 100 U/mL、100 μg/mL) 的 DMEM 高糖完全培养基中, 培养条件为温度 37 °C、CO<sub>2</sub> 饱和湿度 5%, 每 2~3 d 传代 1 次, 培养 2~3 代后取对数生长期细胞进行实验。SK-OV-3 细胞培养于含 10% 胎牛血清、1% 青霉素-链霉素溶液的 McCOY' 5A 完全培养基中, 培养条件为温度 37 °C、CO<sub>2</sub> 饱和湿度 5%, 每 3~5 d 传代 1 次, 培养 2~3 代后取对数生长期细胞进行实验。

2.2 中药注射液对卵巢癌细胞增殖的作用 采用 MTT 法。调整细胞悬液密度至  $5 \times 10^4$  /mL, 接种于 96 孔培养板中, 每孔 100 μL, 即  $5 \times 10^3$  细胞/孔, 空白组加入相应量无细胞培养基, 细胞贴壁后根据药物浓度梯度加入含药培养基, 参考文献 [8-12] 和预实验, 分别确定为消癌平注射液 10、20、40 μL/mL, 艾迪注射液 10、20、40 μL/mL, 华蟾素注射液 5、10、20 μL/mL, 复方苦参注射液 1、5、10 μL/mL, 斑蝥酸钠维生素 B<sub>6</sub> 注射液 50、100、200 μL/mL, 参芪扶正注射液 25、50、100 μL/mL, 而对照组、空白组加入不含药培养基, 每组设 3 个复孔, 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 下培养 24 h。无菌 PBS 缓冲液溶解 MTT 粉末, 制成 5 mg/mL 溶液, 每孔加入 10 μL MTT 溶液继续孵育 4 h, 弃去上清, 加入 150 μL DMSO 振荡溶解紫色晶体 10 min, 酶标仪测定 490 nm 波长下吸光度 (A), 计算细胞增殖率, 公式为增殖率 = [(实验组 A - 空白组 A) / (对照组 A - 空白组 A)] × 100%, 平行 3 次, 取平均值。

2.3 中药注射液对卵巢癌细胞中 ATF3 mRNA 表达的影响 采用 RT-PCR 法。细胞接种于 6 孔板中, 每孔  $5 \times 10^5$  个细胞, 细胞贴壁后用无血清培养基处理 12 h, 用含 40 μmol/L 阳性诱导剂曲格列酮<sup>[13]</sup> 的完全培养基配制终浓度分别为消癌平注射液 10、20、40 μL/mL, 艾迪注射液 10、20、40 μL/mL, 华蟾素注射液 5、10、20 μL/mL, 复方苦参注射液 1、5、10 μL/mL, 斑蝥酸钠维生素 B<sub>6</sub> 注射液 50、100、200 μL/mL, 参芪扶正注射液

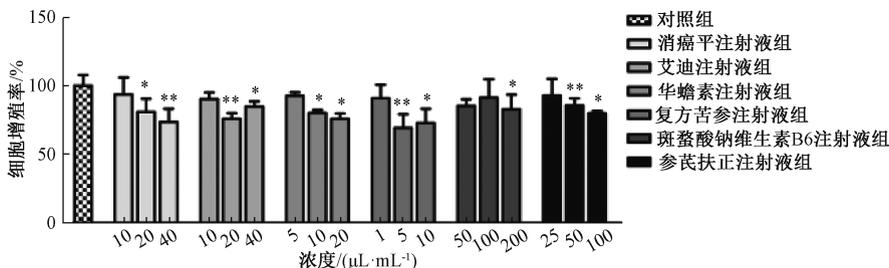
25、50、100 μL/mL 的药液，而对照组只加入无药培养基，阳性诱导组只加入含 40 μmol/L 曲格列酮的完全培养基，各浓度设置 3 个复孔，每孔完全培养基加 2 mL 药物。作用 24 h 后，Trizol 法提取总 RNA，酶标仪测定 RNA 纯度及浓度，按上样 1 000 ng 计算各样品上样量，根据逆转录试剂盒说明书配制 20 μL 上样体系加入 PCR 小管中，置于 PCR 扩增仪上，50 °C 下运行 15 min 合成 cDNA，85 °C 下运行 5 s 终止反应，进行逆转录。以逆转录得到的 cDNA 为模板，按 PCR 扩增说明书加入相应量扩增溶液及引物，20 μL 上样体系中含 25 ng 模板 DNA、10 μmol/L 引物、10 μL RT-PCR Master Mix，96 孔检测板离心后，放入荧光定量 PCR 仪上，PCR 反应条件为 95 °C 下酶激活 30 s，95 °C 下变性 10 s，60 °C 下退火延伸 30 s，进行 40 个循环后降温得融解曲线，验证引物特异性。ATF3 基因

引物序列为正向 TTGCCATCCAGAACAAGCACCTC (5'→3')，反向 GCACTCCGTCTTCTCCTTCTTCTTG (5'→3')，平行 3 次。

2.4 统计学分析 通过 Graphpad prism 6.0 软件进行处理，数据用 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示，组间比较采用单因素方差分析。以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

### 3 结果

3.1 中药注射液对 A2780 细胞增殖的影响 图 1 显示，与对照组比较，消癌平注射液中、高剂量组 (20、40 μL/mL)，艾迪注射液中、高剂量组 (20、40 μL/mL)，华蟾素注射液中、高剂量组 (10、20 μL/mL)，复方苦参注射液中、高剂量组 (5、10 μL/mL)，斑蝥酸钠维生素 B<sub>6</sub> 注射液高剂量组 (200 μL/mL)，参芪扶正注射液中、高剂量 (50、100 μL/mL) 组对 A2780 细胞增殖有显著抑制作用 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )，并随药物浓度升高而增强。



注：与对照组比较，\*  $P < 0.05$ ，\*\*  $P < 0.01$

图 1 中药注射液对 A2780 细胞增殖的影响

Fig. 1 Effects of Chinese herbal injections on A2780 cell proliferation

3.2 中药注射液对 A2780 细胞中 ATF3 mRNA 表达的影响 图 2 显示，40 μmol/L 曲格列酮刺激后，A2780 细胞中 ATF3 mRNA 表达明显升高；与曲格列酮组比较，消癌平注射液低剂量组 (10 μL/mL)，华蟾素注射液中、高剂量组 (10、20 μL/mL)，复方苦参注射液低、中剂量组 (1、5 μL/mL)，参芪扶正注射液高剂量组 (100 μL/mL) ATF3 mRNA 表达显著降低 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )，而斑蝥酸钠维生素 B<sub>6</sub> 注射液高剂量组 (200 μL/mL) 其 mRNA 表达显著增加 ( $P < 0.01$ )，约为对照组的 80 倍。

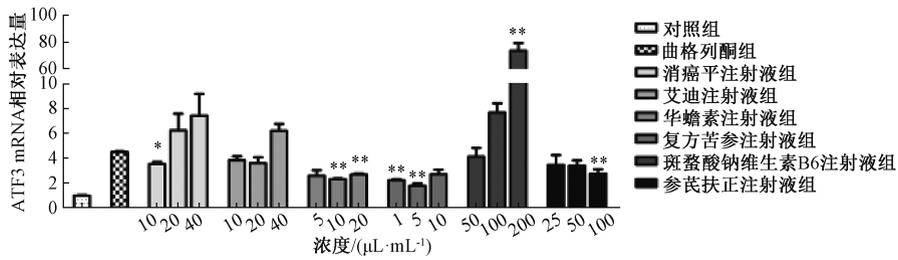
3.3 中药注射液对 SK-OV-3 细胞增殖的影响 图 3 显示，与对照组比较，艾迪注射液低、中、高剂量组 (10、20、40 μL/mL)，华蟾素注射液低、中、高剂量组 (5、10、20 μL/mL)，复方苦参注射液高剂量组 (10 μL/mL)，斑蝥酸钠维生素 B<sub>6</sub> 注射液高剂量组 (200 μL/mL) 对 SK-OV-3 细胞增殖呈显著抑制作用 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )，并随

药物浓度升高而增强。

3.4 中药注射液对 SK-OV-3 细胞中 ATF3 mRNA 表达的影响 图 4 显示，40 μmol/L 曲格列酮刺激后，A2780 细胞中 ATF3 mRNA 表达明显升高；与曲格列酮组比较，消癌平注射液低剂量组 (10 μL/mL)，艾迪注射液中剂量组 (20 μL/mL)，华蟾素注射液低、中剂量组 (5、10 μL/mL)，复方苦参注射液低剂量组 (1 μL/mL) ATF3 mRNA 表达显著降低 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )；斑蝥酸钠维生素 B<sub>6</sub> 注射液低、中、高剂量组 (50、100、200 μL/mL) 其 mRNA 表达显著增加 ( $P < 0.01$ )，约为对照组的 100~200 倍。

### 4 讨论

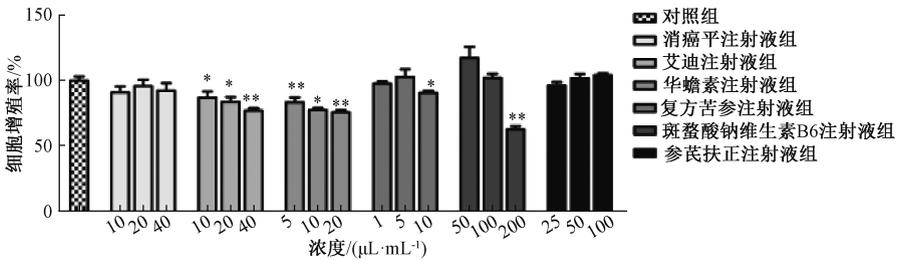
恶性肿瘤的治疗和预后一直是临床、基础研究的热点和难点。以丰富的中草药宝库为基础，近年来我国研发了数十种中药注射液来辅助临床常规的肿瘤治疗，以期达到协同增效、提高患者免疫力、延长生存时间、提升生活质量的效果，但其使用是



注：与曲格列酮组比较，\*  $P < 0.05$ ，\*\*  $P < 0.01$

图2 中药注射液对 A2780 细胞中 ATF3 mRNA 表达的影响

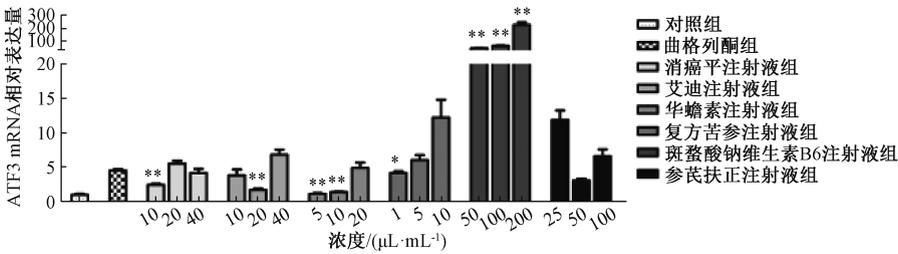
Fig. 2 Effects of Chinese herbal injections on ATF3 mRNA expression in A2780 cells



注：与对照组比较，\*  $P < 0.05$ ，\*\*  $P < 0.01$

图3 中药注射液对 SK-OV-3 细胞增殖的影响

Fig. 3 Effects of Chinese herbal injections on SK-OV-3 cell proliferation



注：与曲格列酮组比较，\*  $P < 0.05$ ，\*\*  $P < 0.01$

图4 中药注射液对 SK-OV-3 细胞中 ATF3 mRNA 表达的影响

Fig. 4 Effects of Chinese herbal injections on ATF3 mRNA expression in SK-OV-3 cells

否恰当、是否能通过作用于有效靶点增强抗癌作用、是否能防止肿瘤转移或免疫逃逸还需要进一步考察。

本实验选择 6 种临床上常用的抗肿瘤中药注射液，其中消癌平注射液是由通关藤干燥藤茎经水提醇沉制成的中药注射剂<sup>[14]</sup>，功效清热解毒、化痰散结，是肺癌、肝癌、消化道肿瘤的治疗药物和化疗辅助药物；艾迪注射液由人参、黄芪、刺五加、斑蝥提取物制成，临床用于治疗原发性肝癌、肺癌、恶性淋巴瘤、妇科恶性肿瘤；华蟾素注射液提取自干蟾皮，有效成分为蟾蜍毒素类，可抑制多种恶性肿瘤增殖、转移，对化疗非敏感肿瘤的疗效良好；复方苦参注射液由苦参、白土苓提取而成，功效凉血解毒、散结止痛，临床上主要用于缓解癌肿

疼痛、减少放化疗毒副作用；斑蝥酸钠维生素 B<sub>6</sub> 注射液有效成分为斑蝥酸钠，是抗肿瘤活性成分斑蝥素的半合成衍生物，适用于中晚期肝癌、肺癌、宫颈癌等治疗<sup>[11]</sup>；参芪扶正注射液提取自党参、黄芪，功效益气扶正，临床上用于癌症患者放化疗中增强机体免疫功能和化疗敏感性。上述中药注射液在临床使用过程中均可与化疗药物联用以抑制肿瘤生长，但具体机制未明。

作为一种适应性反应基因，ATF3 可参与细胞内外复杂的进程，在静息细胞中低表达，可被一系列应激信号（如缺氧、DNA 损伤、抗癌复合物等）快速诱导，它在肿瘤形成发展过程中发挥着关键作用，但其对肿瘤产生的效应是复杂且矛盾的，根据诱导因素、细胞类型、内外环境等不同可表现为促

癌或抑癌 2 种截然相反的作用。研究表明<sup>[15]</sup>, ATF3 过度表达可促进前列腺癌细胞 PC-3 的能动性 & 侵袭性, 但也可促进其凋亡; Yin 等<sup>[7]</sup>发现, 人乳腺癌细胞中 ATF3 被 TGF- $\beta$  诱导而表达增加后, 可通过上调 Slug、Snail 等侵袭促进因子的转录来抑制细胞凋亡, 并促进癌细胞转移; Chang 等<sup>[16]</sup>报道, ATF3 高表达可能与使用紫杉醇引起的乳腺癌肺转移有关, 沉默该因子后可显著减少乳腺癌转移和复发; ATF3 在卵巢癌中作用的研究报道较少, 目前已有报道该因子在晚期卵巢乳头状浆液性癌老年患者中表达升高, 并与复发转移率直接相关<sup>[17]</sup>, 有研究已将抑制其作为评价卵巢癌有效治疗和是否有转移可能的重要指标<sup>[18-19]</sup>。

本实验检测 6 种中药注射剂对 2 种卵巢癌细胞 A2780、SK-OV-3 增殖的抑制率及 ATF3 mRNA 表达。前期报道, 曲格列酮可作为 ATF3 阳性诱导剂, 刺激其 mRNA 表达升高<sup>[13]</sup>, 本实验选择 40  $\mu\text{mol/L}$  作为诱导剂量。结果表明, 各中药注射液在一定浓度内均可抑制 A2780、SK-OV-3 细胞增殖, 并呈浓度依赖性, 其中消癌平注射液在不影响肿瘤细胞增殖的低浓度下可抑制 ATF3 mRNA 表达; 艾迪注射液对 A2780 细胞中 ATF3 mRNA 表达的作用不明显, 但 20  $\mu\text{L/mL}$  下可抑制 SK-OV-3 细胞增殖, 并对其 mRNA 表达有抑制作用; 较低浓度华蟾素注射液对 2 种细胞增殖率及 ATF3 mRNA 表达均有抑制作用; 高浓度 (100  $\mu\text{L/mL}$ ) 参芪扶正注射液可抑制 A2780 增殖, 并下调 ATF3 mRNA 表达; 消癌平注射液、艾迪注射液、华蟾素注射液、复方苦参注射液在较高浓度时有诱导 ATF3 mRNA 高表达的趋势, 虽然不明显, 但仍应引起研究者重视; 斑蝥酸钠维生素 B<sub>6</sub> 注射液对卵巢癌细胞中 ATF3 的诱导能力非常强, 可将其 mRNA 表达增加至约 100 倍以上, 可能与其浓度太高 (200  $\mu\text{L/mL}$ ) 引起细胞应激有关, 也有可能是斑蝥酸钠可直接诱导其 mRNA 表达, 该中药注射液作为抗肿瘤药物或放疗辅助药物使用时, 是否可能通过诱导 ATF3 来引起肿瘤复发和转移仍需进一步基础研究及临床实验。

综上所述, 华蟾素注射液可抑制卵巢癌细胞 A2780、SK-OV-3 的增殖, 并下调 ATF3 mRNA 表达, 而斑蝥酸钠维生素 B<sub>6</sub> 注射液可大幅上调卵巢癌细胞中其 mRNA 表达。中药注射剂要求大量基础研究去阐明其作用机制, 而 ATF3 作为与肿瘤凋亡、转移相关的重要作用靶点, 有望作为评价药物

抗癌及预后的指标之一。

### 参考文献:

- [1] Siegel R L, Miller K D, Jemal A. Cancer statistics, 2018[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(1): 7-30.
- [2] 傅柏涵, 郭放, 韩涛, 等. 消癌平注射液联合化疗治疗转移性三阴性乳腺癌临床疗效观察[J]. *解放军医药杂志*, 2016, 28(6): 23-26.
- [3] 李丽娜, 南克俊, 张茜. 复方斑蝥注射液联合奥沙利铂对肝癌 HepG2 细胞增殖与凋亡的影响[J]. *现代肿瘤医学*, 2011, 19(3): 438-440.
- [4] 梁倩影, 彭大为. 复方苦参注射液联合紫杉醇与顺铂治疗晚期卵巢癌的临床疗效[J]. *实用肿瘤杂志*, 2015, 30(5): 465-468.
- [5] 冯焯, 李占东, 孙红. 中药注射剂在抗肿瘤治疗中的应用[J]. *北方药学*, 2014, 11(5): 71-72.
- [6] Hasim M S, Nessim C, Villeneuve P J, et al. Activating transcription factor 3 as a novel regulator of chemotherapy response in breast cancer[J]. *Translat Oncol*, 2018, 11(4): 988-998.
- [7] Yin X, Wolford C C, Chang Y S, et al. ATF3, an adaptive-response gene, enhances TGF $\beta$  signaling and cancer-initiating cell features in breast cancer cells[J]. *J Cell Sci*, 2010, 123(Pt 20): 3558-3565.
- [8] Fan W, Sun L, Zhou J Q, et al. *Marsdenia tenacissima* extract induces G0/G1 cell cycle arrest in human esophageal carcinoma cells by inhibiting mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathway[J]. *Chin J Nat Med*, 2015, 13(6): 428-437.
- [9] 王成双, 佐满珍. 华蟾素联合顺铂对卵巢癌细胞 A2780 增殖及凋亡的影响[J]. *肿瘤学杂志*, 2017, 23(1): 30-34.
- [10] 张岩岩, 康健. 中药艾迪诱导人喉癌细胞 Hep-2 凋亡的研究[J]. *军医进修学院学报*, 2012, 33(1): 78-81.
- [11] 吴晓慧, 白喜丰, 施喆, 等. 斑蝥酸钠维生素 B6 对肝癌细胞侵袭力的抑制作用及机制[J]. *中成药*, 2016, 38(11): 2487-2489.
- [12] 赵勇, 傅羽, 吴耀华, 等. 参芪扶正注射液与赫塞汀联合应用对乳腺癌细胞增殖和凋亡的影响[J]. *哈尔滨医科大学学报*, 2013, 47(3): 232-235.
- [13] Bottone F G Jr, Moon Y, Alston-Mills B, et al. Transcriptional regulation of activating transcription factor 3 involves the early growth response-1 gene[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2005, 315(2): 668-677.
- [14] 周婧倩, 钦松, 马亮亮, 等. 消癌平注射液及其三大类组分抗肿瘤细胞的迁移能力[J]. *中成药*, 2015, 37(2): 256-260.
- [15] Huang X, Li X, Guo B. KLF6 induces apoptosis in prostate cancer cells through up-regulation of ATF3[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(44): 29795-29801.
- [16] Chang Y S, Jalgaonkar S P, Middleton J D, et al. Stress-inducible gene Atf3 in the noncancer host cells contributes to chemotherapy-exacerbated breast cancer metastasis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(34): E7159-E7168.
- [17] Zhao H, Ding Y, Tie B, et al. miRNA expression pattern asso-

ciated with prognosis in elderly patients with advanced OPSC and OCC[J]. *Int J Oncol*, 2013, 43(3): 839-849.

- [18] Nguyen H T, Jia W, Beedle A M, *et al*. Lysophosphatidic acid mediates activating transcription factor 3 expression which is a target for post-transcriptional silencing by miR-30c-2-3p [J].

*PLoS One*, 2015, 10(9): e0139489.

- [19] Wang Y, Li L, Qu Z, *et al*. The expression of miR-30a\* and miR-30e\* is associated with a dualistic model for grading ovarian papillary serious carcinoma[J]. *Int J Oncol*, 2014, 44(6): 1904-1914.

## 谷红注射液中 2 种成分对脑缺血大鼠氨基酸类神经递质释放的协同作用

潘璐佳, 万海同, 陈俊奎, 诸佳珍, 何 昱\*  
(浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053)

**摘要:** **目的** 探讨谷红注射液中乙酰谷酰胺和羟基红花黄色素 A 对脑缺血大鼠氨基酸类神经递质释放的协同作用。**方法** Longa 法建立改良型大鼠中动脉局灶性栓塞模型。24 只大鼠随机分为模型组、乙酰谷酰胺组 (300 mg/kg)、羟基红花黄色素 A 组 (4 mg/kg)、谷红注射液组 (10 mL/kg), 通过微透析技术在海马区采样, 联合高效液相-电化学 (HPLC-ECD) 法测定天门冬氨酸 (Asp)、谷氨酸 (Glu)、甘氨酸 (Gly)、 $\gamma$ -氨基丁酸 (GABA) 含量。**结果** 脑缺血期间, 4 种氨基酸含量明显升高; 给药后与模型组比较, 给药组 Asp、Glu 含量和 Glu/GABA 比值显著降低 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 其中谷红注射液组 Glu/GABA 比值的降低程度更显著 ( $P < 0.01$ )。**结论** 谷红注射液中乙酰谷酰胺和羟基红花黄色素 A 对维持脑缺血大鼠海马区兴奋-抑制性氨基酸神经递质的平衡具有一定协同作用。

**关键词:** 谷红注射液; 乙酰谷酰胺; 羟基红花黄色素 A; 脑缺血; 氨基酸类神经递质

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2019)04-0784-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2019.04.014

## Synergistic effects of two constituents in Guhong Injection on amino acid neurotransmitter release in cerebral ischemia rats

PAN Lu-jia, WAN Hai-tong, CHEN Jun-kui, ZHU Jia-zhen, HE Yu\*  
(Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

**KEY WORDS:** Guhong Injection; aceglutamide; hydroxysafflor yellow A; cerebral ischemia; amino acid neurotransmitters

脑血管疾病是当今危害中老年健康最严重的疾病之一, 其中 87% 为缺血性。近年来随着我国人口老龄化加剧, 每年大约有 300 万人死于该疾病, 极大危害了人类生命安全, 也给家庭和社会带来了沉重负担<sup>[1-2]</sup>。

神经递质是在化学突触传递中担当信使的特定化学物质<sup>[3]</sup>, 由神经末梢分泌, 能作用于所支配

神经元或效应细胞膜上的受体, 从而完成信息传递功能。中枢神经系统中存在 2 类作为神经递质的游离氨基酸, 即抑制性氨基酸, 如  $\gamma$ -氨基丁酸 (GABA)、甘氨酸 (Gly) 等, 以及兴奋性氨基酸, 如天门冬氨酸 (Asp)、谷氨酸 (Glu) 等<sup>[4]</sup>, 对维持神经系统的平衡起着关键的作用<sup>[5]</sup>, 当发生脑缺血时, 两者平衡会遭到破坏, 进一步加重神经细胞

收稿日期: 2018-06-22

基金项目: 浙江省自然科学基金 (LZ18H270001); 浙江省卫生高层次创新人才培养工程项目 (2014)

作者简介: 潘璐佳 (1994 —), 女, 硕士生, 从事中药质量评价与新药开发研究。Tel: 18868196896, E-mail: PANLUJIA0226@163.com

\* 通信作者: 何 昱 (1974 —), 女, 博士, 教授, 从事中药有效成分与质量控制研究。Tel: (0571) 61768145, E-mail: heyu0923@sina.com