

鹿茸血酶解肽对脂多糖诱导的 H9c2 大鼠心肌细胞损伤的保护作用

尹馨雪¹, 兰梦², 郅慧¹, 张辉¹, 李晶峰²

(1. 长春中医药大学吉林省人参科学研究院, 吉林长春 130117)

(2. 吉林省东北亚生物科技有限公司, 吉林长春 130000)

摘要: 为研究鹿茸血酶解肽对脂多糖 (LPS) 诱导 H9c2 大鼠心肌细胞损伤的保护作用, 本研究利用 LPS 刺激 H9c2 细胞建立损伤模型。选用卡托普利为阳性对照药。MTT 法测定不同浓度 (25、50、100、200、400 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 的鹿茸血酶解肽对 H9c2 细胞增殖抑制活性的影响; 酶联免疫法测定细胞上清液中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6 (IL-6)、白细胞介素-1 β (IL-1 β) 含量。并分析鹿茸血酶解肽的氨基酸组成。结果表明, 与模型组比较, 不同浓度 (25、50、100、200、400 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 的鹿茸血酶解肽均可显著抑制受损伤的 H9c2 增殖和 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的释放 ($p < 0.05$), 模型组的 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 释放量分别为: 531.05、185.41、70.03 pg/mL , 在 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 质量浓度下, 鹿茸血酶解肽对上述三种炎症因子释放的抑制作用最显著 ($p < 0.001$), 其释放量分别为: 357.93、148.69、62.72 pg/mL 。对 LPS 诱导 H9c2 细胞损伤具有保护作用的鹿茸血酶解肽中富含赖氨酸, 含量占总氨基酸组成的 17.81%。以上结果说明鹿茸血酶解肽可以抑制受损伤的 H9c2 细胞增殖, 同时减少炎症因子 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的释放, 通过抑制炎症因子的分泌来发挥其对 LPS 诱导的 H9c2 细胞损伤的保护作用。

关键词: 鹿茸血酶解肽; 大鼠心肌细胞 (H9c2); 炎症因子; 氨基酸组成

文章编号: 1673-9078(2021)08-8-13

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.8.1196

Protective Effect of the Enzymatic Peptide from Deer Antler Blood Against Lipopolysaccharide-induced Cardiomyocyte Damage in H9c2

Rats

YIN Xin-xue¹, LAN Meng², ZHI Hui¹, ZHANG Hui¹, LI Jing-feng²

(1. Jilin Province Ginseng Science Research Institute, Changchun University of Traditional Chinese Medicine, Changchun 130117, China) (2. Jilin Province Northeast Asia Biotechnology Co. Ltd., Changchun 130000, China)

Abstract: In order to investigate the protective effect of the enzymatic peptide from deer antler blood against lipopolysaccharide (LPS)-induced H9c2 rat cardiomyocyte damage, this study used LPS to stimulate H9c2 cells to establish an injury model. Captopril was selected as the positive control drug. MTT method was used to determine the effects of different concentrations (25, 50, 100, 200, 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$) of the enzymatic peptide from deer antler blood on H9c2 cell proliferation-inhibitory activity; Enzyme-linked immunoassay was used to determine the contents of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6) and interleukin-1 β (IL-1 β) in the cell supernatant. The amino acid composition of the enzymatic peptide from the antler blood was analyzed. The results showed that compared with the model group, different concentrations (25, 50, 100, 200, 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$) of deer antler hemolyzed peptides could significantly inhibit the proliferation of damaged H9c2 and the release of

引文格式:

尹馨雪, 兰梦, 郅慧, 等. 鹿茸血酶解肽对脂多糖诱导的 H9c2 大鼠心肌细胞损伤的保护作用[J]. 现代食品科技, 2021, 37(8): 8-13, +183

YIN Xin-xue, LAN Meng, ZHI Hui, et al. Protective effect of the enzymatic peptide from deer antler blood against lipopolysaccharide-induced cardiomyocyte damage in H9c2 rats [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(8): 8-13, +183

收稿日期: 2020-12-24

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81373936); 吉林省科技发展计划重点项目 (20160209006YY)

作者简介: 尹馨雪 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药学

通讯作者: 张辉 (1958-), 男, 教授, 研究方向: 中药化学; 共同通讯作者: 李晶峰 (1989-), 女, 博士, 研究方向: 中药化学

TNF- α , IL-6 and IL-1 β ($p < 0.05$). The contents of the released TNF- α , IL-6 and IL-1 β in the model group were 531.05, 185.41, and 70.03 (pg/mL), respectively. At a mass concentration of 200 $\mu\text{g/mL}$, the enzymatic peptide from the deer antler blood exhibited the greatest inhibitory effect on the release of the three above-mentioned inflammatory factors ($p < 0.001$), with the released amounts as 357.93, 148.69, and 62.72 (pg/mL), respectively. Lys was rich in the enzymatic peptide from the antler blood that exhibited protection on the injured H9c2 cells induced by LPS, accounting for 17.81% of the total amino acids. These results indicate that the enzymolyzed peptide from deer antler blood can inhibit the proliferation of injured H9c2 cells, while reducing the release of inflammatory factors TNF- α , IL-6 and IL-1 β , and exert its effect on LPS-induced H9c2 cells through inhibiting the secretion of inflammatory factors.

Key words: enzymatic peptide from deer antler blood; rat cardiomyocytes (H9c2); inflammatory factors; amino acid composition

心力衰竭 (Heart Failure, HF) 是严重危害人类健康的一种病理综合征, 与恶性肿瘤病人死亡率相仿, 见于各种心血管疾病。近年来, 随着心血管疾病患者的增多、社会医疗水平的提高以及全球老龄化, 心力衰竭人数的不断增多已成为重要社会公众卫生问题^[1]。心肌细胞损伤凋亡及过度分泌炎症因子是导致心力衰竭的重要因素。因此抑制心肌细胞损伤凋亡及其产生的炎症因子对于心力衰竭的防治具有积极的意义^[2]。

鹿血是梅花鹿 (*Cervus nippon* Temminck) 或马鹿 (*Cervus elaphus* Linnaeus) 的腔血或茸血, 系传统的名贵中药。近年来, 鹿血产品的研发受到广泛关注, 目前鹿血产品主要形式为鹿血酒、鹿血口服液、鹿血口嚼片、鹿血滋补胶囊^[3], 作为特色药食同源食品, 市面上也出现了鹿血蛋羹、鹿血粥等产品^[4]。鹿血中的主要成分是蛋白质, 含量占 13% 以上, 蛋白质是由肽组成的^[5], 鹿血肽是指鹿血中的蛋白质被蛋白酶水解产生的多肽, 活性较好, 具有特殊的生物学功能, 比蛋白质更易被人体吸收^[6]。现代临床研究表明, 鹿血肽在补血、强心、抗氧化、提高免疫力、抗衰老等方面有显著疗效^[7]。姜红等^[8]通过体外实验研究发现鹿茸血水解肽能明显提高小鼠脾脏、胸腺指数, 同时, 能极显著地提高小鼠血清总抗氧化能力, 证明了鹿茸血水解肽能有效的提高机体免疫力和抗氧化能力; 付彩霞等^[9]研究发现鹿血酶解液可提高模型小鼠的血清活力、降低肝脏中的丙二醛 (MDA) 含量和抑制单胺氧化酶 B (MAO-B) 的活力, 从而证明鹿血酶解液具有抗衰老作用; 王博^[10]等人通过采用鹿血灌流离体心脏方法, 观察鹿血对离体心脏的直接效应, 发现鹿血可明显增强离体牛蛙心脏的心肌收缩力, 证明了鹿血具有增强心肌收缩力的作用, 进一步反映了鹿血对心脏的强心作用。

鹿血在治疗心力衰竭方面的相关文献较少, 现有研究表明, 鹿血的低胆固醇含量, 以及其中的各种酶对心血管疾病具有一定的治疗作用^[10]。本研究选用超滤技术将鹿茸血酶解肽分成不同的分子量, 采用 LPS 诱导 H9c2 细胞损伤, 通过考察其对损伤后 H9c2 细胞

增殖抑制活性的影响, 筛选鹿茸血酶解肽对 LPS 诱导的 H9c2 细胞损伤具有保护作用的活性组分, 以及最佳组分对 H9c2 细胞分泌炎症因子的影响, 在细胞水平上探讨鹿茸血酶解肽对 LPS 诱导的 H9c2 细胞损伤的保护作用, 对鹿血的开发及应用有显著意义。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

梅花鹿鹿茸血, 通化承诚药业有限公司; 碱性蛋白酶, 上海宝曼生物科技有限公司; 大鼠心肌细胞 (H9c2), 广州赛库生物技术有限公司; 卡托普利, 上海源叶生物科技有限公司; 脂多糖 LPS, 索宝来公司; 噻唑蓝 (methyl thiazolyl tetrazolium, MTT), 美国 Amresco 公司; 胎牛血清, 美国 Gibco 公司; DMEM 高糖培养基, 美国 Hyclone 公司; 二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO), 天津市光复精细化工研究所; TNF- α 、IL-6、IL-1 β 试剂盒, 长春百金生物科技有限公司; 其他试剂均为国产分析纯。

GZLY-0.4 药用真空冷冻干燥机, 北京速原中天科技有限公司; DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器, 郑州市英峪予华仪器有限公司; 680 型酶标仪, 上海伯乐生命医学产品有限公司; L-8900 型氨基酸自动分析仪, 日本日立公司。

1.2 实验方法

1.2.1 鹿茸血酶解肽的制备

取一定量用纱布过滤好的新鲜鹿茸血, 按底物浓度 5% 加入蒸馏水, 调节 pH 为 10.4, 按 4400 U/g 加入一定量的碱性蛋白酶, 52 $^{\circ}\text{C}$ 下酶解 5 h, 反应过程中不断加入 1 mol/L NaOH 或 HCl 维持 pH 恒定在 10.4, 水解反应结束后沸水浴灭酶 30 min, 迅速冷却, 水解液 3800 r/min 离心 30 min^[8] 收集上清液冷冻干燥, 得到鹿茸血酶解肽冻干粉 (DBP) 备用。

1.2.2 超滤膜分级不同分子量

用 10 ku、3 ku、1 ku 超滤膜将提取液分为总提液、

大于 10 ku、3~10 ku、1~3 ku、小于 1 ku 五个分子质量段。分别命名为 DBP-1、DBP-2、DBP-3、DBP-4、DBP-5 冻干备用。以对受损伤的 H9c2 细胞的抑制活性影响筛选最佳活性组分。

1.2.3 鹿茸血酶解肽对大鼠心肌细胞增殖抑制活性及炎症因子分泌的影响

1.2.3.1 细胞培养H9c2 细胞

细胞用含 10%胎牛血清的DMEM (改良型) 培养液, 置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养, 选取对数生长长期的细胞用于实验。

1.2.3.2 MTT法测定不同组分对细胞增殖抑制率的影响

取对数生长期的细胞, 调密度为每孔 4×10^3 个细胞, 将混悬细胞液接种至 96 孔培养板上, 放入 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h, 模型组、阳性组与样品组加入 100 μL 的 1 μg/mL LPS 造模, 空白对照组加入 100 μL 含 10%胎牛血清的DMEM培养液; 培养 24 h, 样品组加入 150 μL 浓度为 25 μg/mL、50 μg/mL、100 μg/mL、200 μg/mL、400 μg/mL 的各个组分的鹿茸血酶解肽溶液, 阳性对照组为 150 μL 的 10 μg/mL 卡托普利, 每组 5 个复孔。在 37 °C、5% CO₂ 条件下培养 24 h, 每孔加入 10 μL 的 5 mg/mL MTT, 4 h 后弃去上清液, 加入 DMSO 150 μL, 振荡 5 min, 于 490 nm 波长处测其 OD 值。计算细胞增殖抑制率。实验独立重复 3 次。

细胞增殖抑制率/% = $[(A_{\text{模型组}} - A_{\text{给药组}}) / A_{\text{模型组}}] \times 100\%$

1.2.3.3 鹿茸血酶解肽对H9c2 细胞释放TNF-α、IL-6、IL-1β水平的影响

将对数生长期细胞接种于 96 孔培养板, 调密度为每孔 4×10^3 个细胞, 于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h, 模型组、阳性对照组、空白组设定方法同 1.2.3.2, 样品组加入 150 μL 的 25、50、100、200、400 μg/mL 的 DBP-5 样品溶液, 每组 5 个复孔。于 37 °C、5% CO₂ 条件下培养 24 h 后, 取上清液 150 μL, 按 TNF-α、IL-6、IL-1β 试剂盒说明书测定各炎症因子的分泌量。实验独

立重复 3 次。

1.2.4 鹿茸血酶解肽氨基酸组成分析

取分子量小于 1 ku 的鹿茸血酶解肽冻干粉 (DBP-5) 10 mg, 加入 10 mL 6 mol/L 的盐酸, 配成浓度为 1 mg/mL 的溶液, 110 °C 水解 24 h, 氨基酸自动检测仪测定氨基酸组成^[11]。

1.2.5 数据统计

每个样品重复试验 3 次, 结果取平均值, 采用 SPSS 21.0 软件进行数据统计分析显著性, 计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析和 t 检验; 响应面试验结果应用 Design Expert 10 软件分析。

2 结果与讨论

2.1 鹿茸血酶解肽对受损伤的 H9c2 细胞增殖抑制的影响

由表 1 各组细胞增殖抑制率可以看出, 与空白组相比, LPS 模型组细胞显著增殖 ($p < 0.01$), 增值率为 36.38%, 证明 LPS 模型造模成功; 与 LPS 模型组相比, 各给药组均不同程度地抑制受损伤的 H9c2 细胞增殖, 其中 DBP-5 组分活性最强。在 25~200 μg/mL 质量浓度范围内, 细胞增殖抑制率随着样品浓度的增高而增高, 且在 25~200 μg/mL 范围内呈现浓度依赖性, 当浓度超过 200 μg/mL 时, 细胞增殖抑制率开始下降。在 200 μg/mL 质量浓度下, 鹿茸血酶解肽对受损伤的 H9c2 细胞抑制作用最为显著 ($p < 0.001$)。综上所述鹿茸血酶解肽各组分对受损伤的 H9c2 细胞增殖抑制活性结果为: 组分 DBP-5 在 200 μg/mL 质量浓度下活性最佳, 与阳性对照组最为接近, 对细胞的抑制率达到 35.12%。代天^[12]等人研究发现黄花倒水莲能够降低受损伤的 H9c2 细胞的增殖抑制率, 从而来保护 LPS 诱导的大鼠心肌细胞损伤, 与本文结果相似。

表 1 各组细胞增殖抑制率

Table 1 Cell proliferation in-hibitory rate in each group ($\bar{x} \pm s$, n=3)

组别	浓度/%				
	25 μg/mL	50 μg/mL	100 μg/mL	200 μg/mL	400 μg/mL
空白	-				
模型	36.38±1.18				
阳性	49.76±0.94				
DBP-1	0.16±0.07	4.57±0.31	6.61±0.79	33.39±0.27	20.79±0.94
DBP-2	0.47±0.36	4.41±1.89	5.51±2.05	34.02±1.42	20.31±2.20
DBP-3	0.63±0.24	2.67±0.47	5.35±2.83	34.65±4.72	20.79±1.26
DBP-4	1.89±0.67	4.25±0.79	7.72±4.72	34.96±0.31	21.10±3.15
DBP-5	2.52±2.01	5.83±1.57	9.76±1.57	35.12±2.05	21.42±2.20

2.2 鹿茸血酶解肽对 H9c2 细胞释放 TNF- α 、

IL-6、IL-1 β 水平的影响

2.2.1 鹿茸血酶解肽对 H9c2 细胞释放 TNF- α 水平的影响

TNF- α 是一种细胞因子,具有多种生物学活性。与受体结合能产生多种生物学效应,如激活蛋白激酶 C、免疫刺激,以及涉及多种炎症、细胞生长的基因表达和激活等。目前研究表明,心肌是发生心衰时生物合成 TNF- α 的主要器官。终末期心衰患者血浆 TNF- α 水平升高, TNF- α 对心脏的影响可能表现为抑制心肌收缩力、影响心肌重构、促发心肌细胞凋亡等 3 个方面^[13]。由图 1 可知,给药后 H9c2 细胞上清液中 TNF- α 含量均有不同程度的降低,模型组的 TNF- α 释放量为 531.05 pg/mL。鹿茸血酶解肽质量浓度为 200 $\mu\text{g/mL}$ 时,对受损伤的 H9c2 细胞释放 TNF- α 的量抑制作用最强 ($p < 0.001$), TNF- α 释放量为 357.93 pg/mL,抑制率提高了 32.60%。质量浓度超过 200 $\mu\text{g/mL}$ 时, TNF- α 释放量开始升高。相似研究表明^[14], 黄芪多糖对大鼠心肌细胞肥大的保护作用与减少受损伤的 H9c2 细胞 TNF- α 的分泌量有关。本研究中的鹿茸血酶解肽同样能够通过减少受损伤的 H9c2 细胞 TNF- α 分泌量来达到对心肌细胞的保护。

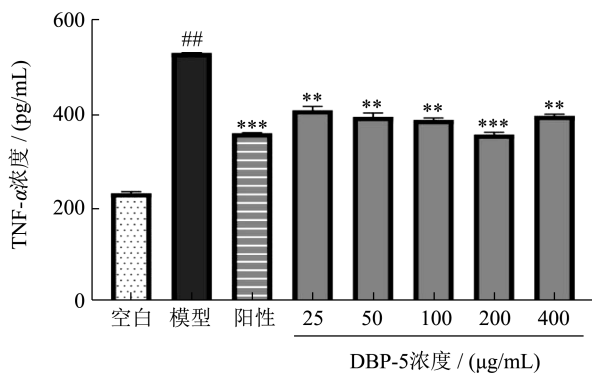


图 1 各组细胞培养液中 TNF- α 含量测定结果

Fig.1 Shows the determination results of TNF- α content in the cell culture medium of each group ($\bar{x} \pm s, n=3$)

注: #表示模型和空白组相比, *表示给药组和模型组相比; *表示 $p < 0.05$; **表示 $p < 0.01$; ***表示 $p < 0.001$, (下同)。

2.2.2 鹿茸血酶解肽对 H9c2 细胞释放 IL-6 水平的影响

IL-6 是一种小分子可溶性糖蛋白,参与免疫反应、细胞生长、增殖、迁移等多种病理生理反应。流行病学证据显示血浆 IL-6 水平与冠心病发病风险密切相关。临床研究亦显示血浆 IL-6 水平和冠心病

发病率、非致死性心梗、冠心病死亡明显相关^[15]。由图 2 可知,不同质量浓度的鹿茸血酶解肽对受损伤的 H9c2 细胞释放 IL-6 的量均有抑制作用。模型组的 IL-6 释放量为 185.41 pg/mL。在质量浓度达到 200 $\mu\text{g/mL}$ 时, IL-6 释放量达到最低 ($p < 0.01$), 为 148.69 pg/mL,抑制率提高了 19.80%。质量浓度超过 200 $\mu\text{g/mL}$ 时, IL-6 释放量开始升高。相似研究证实^[16], IL-6 参与心衰心肌细胞凋亡,进展期心衰患者心肌细胞 IL-6 mRNA 表达增加,心力衰竭患者血浆 IL-6 水平升高。

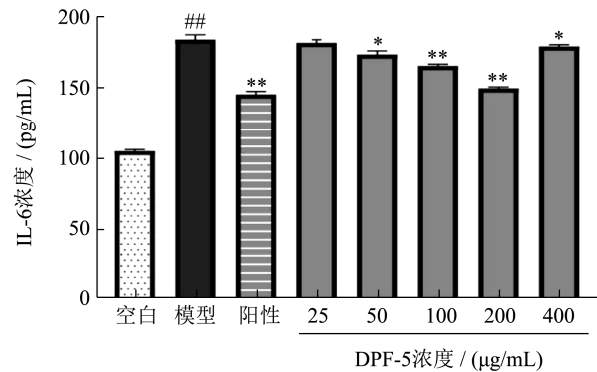


图 2 各组细胞培养液中 IL-6 含量测定结果

Fig.2 Shows the determination results of IL-6 content in the cell culture medium of each group ($\bar{x} \pm s, n=3$)

2.2.3 鹿茸血酶解肽对 H9c2 细胞释放 IL-1 β 水平的影响

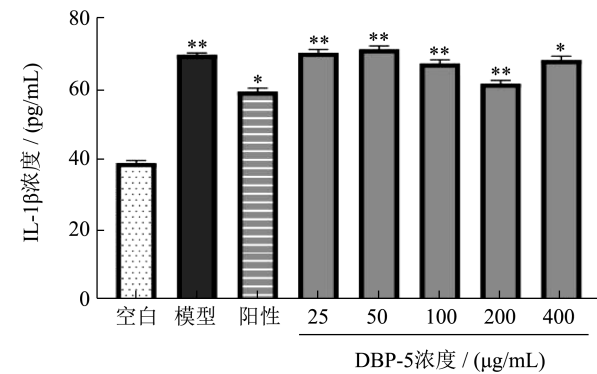


图 3 各组细胞培养液中 IL-1 β 含量测定结果

Fig.3 Shows the determination results of IL-1 β content in the cell culture medium of each group ($\bar{x} \pm s, n=3$)

IL-1 β 是细胞凋亡过程中的重要炎症因子之一, NF- κB 是核转录因子,通过调节炎症因子、趋化因子等,在免疫、炎症、凋亡中发挥重要作用^[17],其既可调节其下游的促炎症因子肿瘤坏死因子 IL-1 β 的表达,又可被其反馈激活,进而放大炎症反应,上调 NF- κB 的表达,诱导细胞凋亡^[18];由图 3 可知,随着鹿茸血酶解肽质量浓度的升高, IL-1 β 的释放量逐渐降低。模型组的 IL-1 β 释放量为 70.03 pg/mL,在质量浓度达到 200 $\mu\text{g/mL}$ 时, IL-1 β 的释放量达到最

低 ($p<0.01$), 与阳性对照组最为接近, 为 62.72 $\mu\text{g/mL}$, 抑制率提高了 10.44%。当质量浓度超过 200 $\mu\text{g/mL}$ 时, IL-1 β 的释放量开始升高。表明鹿茸血酶解肽可能通过抑制 IL-1 β 的释放量来发挥其对 LPS 诱导的 H9c2 细胞的保护作用, 且在质量浓度达到 200 $\mu\text{g/mL}$ 时活性最佳。相似研究表明^[17], 黄芪多糖通过减少受 LPS 诱导损伤的 H9c2 细胞分泌 TNF- α 、IL-1 β 的量, 进而减轻心肌细胞凋亡, 从而保护心肌细胞。

2.3 鹿茸血酶解肽的氨基酸组成

表 2 鹿茸血酶解肽氨基酸组成及含量

Table 2 Deer antler blood enzymatic peptide amino acid composition and content

氨基酸种类	氨基酸含量/%
天冬氨酸 (Asp)	6.31
苏氨酸 (Thr) *	3.15 (4.0)
丝氨酸 (Ser)	3.26
谷氨酸 (Glu)	3.45
甘氨酸 (Gly)	8.68
丙氨酸 (Ala)	10.32
半胱氨酸 (Cys)	1.38
缬氨酸 (Val) *	8.87 (5.0)
甲硫氨酸 (Met) *	0.45 (3.5)
异亮氨酸 (Ile) *	0.82 (4.0)
亮氨酸 (Leu) *	6.71 (7.0)
酪氨酸 (Tyr)	0.86
苯丙氨酸 (Phe) *	14.97 (6.0)
赖氨酸 (Lys) *	17.81 (5.5)
组氨酸 (His)	6.81
精氨酸 (Arg)	0.71
脯氨酸 (Pro)	5.47
总和	100.03

注: *为必需氨基酸; 括号内是人体必需氨基酸模式。

鹿茸血酶解肽氨基酸组成分析结果及含量如表 2 所示。由表 2 可知, 鹿茸血酶解肽中含有 17 种氨基酸, 其中 Lys 含量在鹿茸血酶解肽氨基酸总含量中占比最高, 占 17.81%; 刘君雯^[19]等人研究发现 Lys 可使 p53 蛋白表达显著降低, 使 bcl-2 蛋白表达显著增高, 并使 bcl-2/bax 比值增高, 从而抑制细胞损伤凋亡。初步认为 Lys 可能是其保护机体、减少凋亡的机制之一。人体必需氨基酸 (Lys、Phe、Val、Leu、Thr、Ile、Met) 含量较高, 占氨基酸总含量的 52.78%。Thr、Ile、Met 低于人体必需氨基酸模式, 其它几种必需氨基酸均高于或与人模式相近。这表明鹿茸血具有较高的营养价值以及保

健功能。黄开华等人用胰蛋白酶酶解鹿血制备抗氧化活性肽时 Leu、Lys 和 Ala 的质量分数较高, 分别为 17.2%、12.3%和 12.1%, 与碱性蛋白酶酶解结果有所差异, 这可能与酶对氨基酸形成肽键的催化水解有较弱的专一性有关^[20]。

3 结论

本实验结果表明不同组分及不同浓度的鹿茸血酶解肽均可抑制损伤的 H9c2 细胞的增殖, 其中组分 DBP-5、浓度为 200 $\mu\text{g/mL}$ 的鹿茸血酶解肽对受损伤的 H9c2 细胞的抑制作用最强 ($p<0.001$), 抑制率为 35.12%。组分 DBP-5 质量浓度达到 200 $\mu\text{g/mL}$ 时, 给药后 H9c2 细胞上清液中炎症因子 TNF- α ($p<0.001$)、IL-6 ($p<0.01$)、IL-1 β ($p<0.01$) 释放量与模型组相比达到最低, 鹿茸血酶解肽中具有抑制细胞损伤凋亡的 Lys 含量最高, 证明了鹿茸血酶解肽对 LPS 诱导的 H9c2 细胞具有一定的保护作用, 且鹿茸血酶解肽对 LPS 诱导的 H9c2 细胞的保护作用与其抑制炎症因子的释放密切相关。但是中药在治疗疾病时具有多途径、多靶点的特点^[21], 所以鹿茸血肽在治疗心血管疾病方面的作用值得深入研究。

参考文献

- [1] Tschpe C, Kherad B, Klein O, et al. Cardiac contractility modulation: mechanisms of action in heart failure with reduced ejection fraction and beyond [J]. Eur J Heart Fail, 2019, 21(1): 14-22
- [2] 赵锋利. 开心胶囊 I 号对心力衰竭大鼠心肌细胞凋亡调控作用的实验研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2000
- [3] ZHAO Feng-li. Experimental study of Kaixin Capsule No.1 on the regulation of cardiomyocyte apoptosis in rats with heart failure [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, 2000
- [4] 胡太超, 陶荣珊, 李庆杰, 等. 鹿血多肽的制备工艺及抗氧化能力研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(17): 107-110
- [5] HU Tai-chao, TAO Rong-shan, LI Qing-jie, et al. Study on the preparation technology and antioxidant capacity of deer blood peptides [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(17): 107-110
- [6] 宋胜利, 葛志广, 宋文涛, 等. 鹿血资源的开发及利用前景[J]. 农牧产品开发, 2000, 11: 5-8
- [7] SONG Sheng-li, GE Zhi-guang, SONG Wen-tao, et al. Development and utilization prospects of deer blood resources [J]. Development of Agricultural and Animal Husbandry Products, 2000, 11: 5-8

- [5] 靳艳.鹿血活性肽在制备降血压药物及保健品中的应用[A].中国畜牧业协会.第八届(2017)中国鹿业发展大会论文集[C].畜牧业协会:2017,3:10-12
JIN Yan. Application of active peptides from deer blood in the preparation of antihypertensive drugs and health products [A]. China Animal Husbandry Association. Proceedings of the 8th (2017) China Deer Industry Development Conference [C]. Animal Husbandry Association: 2017, 3: 10-12
- [6] 高冷,刘达,谢冠男.响应面法优化鹿血肽的制备工艺[J].化学工程师,2011,25(11):64-67
GAO Leng, LIU Da, XIE Guan-nan. Optimization of the preparation process of deer blood peptide by response surface methodology [J]. Chemical Engineer, 2011, 25(11): 64-67
- [7] 蒋蕾,赵文静,常惟智.鹿血的药理作用及临床应用概况[J].中医药信息,2006,6:12-13
JIANG Lei, ZHAO Wen-jing, CHANG Wei-zhi. The pharmacological effects and clinical application of deer blood [J]. Information on Traditional Chinese Medicine, 2006, 6: 12-13
- [8] 姜红.马鹿茸血酶解肽免疫活性及抗氧化活性的研究[D].无锡:江南大学,2008
JIANG Hong. Study on immune activity and antioxidant activity of blood enzymatic peptides from red deer antler [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2008
- [9] 付彩霞.梅花鹿血的蛋白酶水解及水解产物的抗衰老功能研究[D].武汉:华中农业大学,2009
FU Cai-xia. Study on the protease hydrolysis of sika deer blood and the anti-aging function of the hydrolysate [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2009
- [10] 王博,邢婷婷,黄伟,等.梅花鹿和驯鹿外周血和茸血对牛蛙离体心脏心肌收缩力和心率的影响[J].经济动物学报,2013,17(2):82-85
WANG Bo, XING Ting-ting, HUANG Wei, et al. Effects of peripheral blood and antler blood of sika deer and reindeer on myocardial contractility and heart rate of isolated bullfrog hearts [J]. Acta Economic Zoology, 2013, 17(2): 82-85
- [11] 孙慧,李晶峰,赵子佳,等.传统加工方式对鹿茸氨基酸组成与促睾丸间质细胞分泌睾酮的影响[J].时珍国医国药,2017,28(11):2656-2658
SUN Hui, LI Jing-feng, ZHAO Zi-jia, et al. Effects of traditional processing methods on amino acid composition of velvet antler and testosterone secretion by testicular stromal cells [J]. Shizhen Journal of Traditional Chinese Medicine Research, 2017, 28(11): 2656-2858
- [12] 代天,杨萍,赵谦,等.黄花倒水莲下调 miR-369 对 LPS 诱导大鼠心肌细胞损伤的保护机制研究[J].中国免疫学杂志,2020,36(20):2462-2467
DAI Tian, YANG Ping, ZHAO Qian, et al. The protective mechanism of down-regulation of miR-369 on LPS-induced cardiomyocyte damage in rats with LPS-induced damage [J]. Chinese Journal of Immunology, 2020, 36(20): 2462-2467
- [13] 林鑫.复心汤对心衰大鼠模型 TNF- α 及心肌细胞凋亡的影响[D].济南:山东中医药大学,2012
LIN Xin. Effect of Fuxin decoction on TNF- α and cardiomyocyte apoptosis in heart failure rat model [D]. Jinan: Shandong University of Traditional Chinese Medicine, 2012
- [14] 周振华,王洪新,赵素玲,等.黄芪多糖对脂多糖诱导大鼠心肌细胞肥大的保护作用[J].中草药,2012,43(3):524-528
ZHOU Zhen-hua, WANG Hong-xin, ZHAO Su-ling, et al. Protective effect of *Astragalus* polysaccharide on lipopolysaccharide-induced cardiomyocyte hypertrophy in rats [J]. Chinese Traditional and Herbal Medicine, 2012, 43(3): 524-528
- [15] 田磊.同型半胱氨酸通过调节 IL-6/STAT3 信号通路促进缺血的 H9c2 细胞系凋亡[D].武汉:华中科技大学,2019
TIAN Lei. Homocysteine promotes apoptosis of ischemic H9c2 cell line by regulating IL-6/STAT3 signaling pathway [D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2019
- [16] Shao T, Zhang Y, Tang R, et al. Effects of milrinone on serum IL-6, TNF- α , Cys-C and cardiac functions of patients with chronic heart failure [J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2018, 16(5): 4162-4166
- [17] 韩琳,王洪新,鲁美丽.黄芪多糖通过抑制 NF- κ B 和 JNK 信号通路减轻 LPS 诱导的小鼠心肌细胞凋亡[J].中国药理学通报,2018,34(2):243-249
HAN Lin, WANG Hong-xin, LU Mei-li. Astragalus polysaccharide reduces LPS-induced apoptosis of mouse cardiomyocytes by inhibiting NF- κ B and JNK signaling pathways [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2018, 34(2): 243-249
- [18] Yeom M, Kim J H, Min J H, et al. Xanthii fructus inhibits in-inflammatory responses in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages through suppressing NF- κ B and JNK/p38MAPK [J]. J Ethnopharmacol, 2015, 176: 394-401