

蜂胶复方产品对心肌肥厚改善机制的转录组学研究

RNA-Seq analysis of improving mechanism for cardiac hypertrophy of a propolis product

孙燕如^{1,2,3}

韩鸣凤³

沈圳煌³

吴珍红^{2,3}

缪晓青^{2,3}

SUN Yan-ru^{1,2,3} HAN Ming-feng³ SHEN Zhen-huang³ WU Zhen-hong^{2,3} MIAO Xiao-qing^{2,3}

(1. 福建农林大学生命科学学院, 福建 福州 350002; 2. 福建农林大学蜂学学院, 福建 福州 350002;

3. 天然生物毒素国家与地方联合工程实验室, 福建 福州 350002)

(1. College of Life Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China;

2. College of Bee Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China;

3. National United Engineering Laboratory of Natural Biological Toxins, Fuzhou, Fujian 350002, China)

摘要:为了利用转录组学研究蜂胶复方产品改善心肌肥厚的机制,以自发性高血压大鼠(SHR)为研究对象,连续给药35 d后剖取心脏、测定左心室指数,对药效最佳组和模型组的心肌进行转录组测序,筛选出差异基因(DEGs),并进行GO富集和KEGG代谢通路分析。结果表明:蜂胶复方产品组与模型对照组有1 297个DEGs(91个DEGs上调、1 206个DEGs下调)。KEGG代谢通路结果显示,有410个DEGs可富集到182个代谢通路中,DEGs富集较多的前3个通路与胰岛素信号转导密切相关,分别是PI3K-Akt信号通路、胰岛素信号通路、MAPK信号通路,提示该蜂胶复方产品通过调控与胰岛素信号转导相关的信号通路从而改善SHR的心肌肥厚。

关键词:蜂产品;自发性高血压大鼠;心肌肥厚;RNA-Seq;胰岛素信号通路

Abstract: To study the improving mechanism of a propolis product on cardiac hypertrophy, spontaneously hypertensive rats (SHRs) were picked as animal models. After continuous infusion of this propolis product for 35 d, left ventricular index were calculated and RNA-Seq was performed. Differentially expressed genes (DEGs) were screened with the following GO enrichment analysis and KEGG metabolic pathway analysis. Totally 1 297 DEGs (91 DEGs were up-regulated and 1 206 DEGs were down-regulated) were selected. Results of KEGG metabolic pathways showed that 410 DEGs were enriched into 182 KEGG pathways, among which the top three DEGs enrichment is closely related to insulin signal transduction pathways, namely PI3K-Akt signaling pathway, insulin signaling pathway and MAPK signal

pathway. It was indicated that the effect of the propolis product on the myocardial hypertrophy of SHRs was improved and the main KEGG pathways were associated with insulin signal transduction.

Keywords: bee product; spontaneously hypertensive rat; cardiac hypertrophy; RNA-Seq; insulin signaling pathway

高血压是世界范围内致死率最高的单因素疾病,会累及心脏、大脑、肾脏等靶器官^[1]。由高血压引起的左心室重构是导致心脏衰竭、猝死和心肌梗死的一个独立原因^[2]。当心肌负荷增高时,心肌代偿性改变,出现左心室的肥大,最终心肌的不适应性变化发生,导致心肌重构从而引发心脏衰竭。高血压心肌肥厚与重构过程中,心肌细胞坏死、凋亡、自噬,同时,纤维细胞的增殖和细胞外基质的重组会引起心肌纤维化^[3]。左心室重构通常表现为心室壁增厚、心肌重量增加和心肌重塑^[4]。目前,病理性心肌肥厚的分子机制尚未完全阐明,普遍认为当心脏受到机械牵张、压力负荷、缺血缺氧等刺激时,多个信号通路共同参与导致心肌肥厚中,其中胰岛素信号通路是介导病理性心肌肥厚的主要通路^[5],在胰岛素与胰岛素受体结合后,活化的胰岛素受体酪氨酸激酶与多个信号转导蛋白相互影响,继而激活了PI3K-Akt信号通路和MAPK信号通路。研究显示,胰岛素受体通路上的基因ERK^[6-7]、PI3K、GSK3 β ^[8-9]等都可能是改善心肌肥厚的作用靶点。

用蜂胶、蜂王浆、蜂巢提取液等药食两用的蜂产品与蜂毒按照中药“君臣佐使”的配伍原则可复配制成一种蜂胶复方产品。前期试验^[10]证明,在离体蛙心上,该蜂胶复方产品可以增加蛙心收缩力从而改善心脏功能,其正性肌力类似于肾上腺素、可被盐酸普萘洛尔抑制。在慢性心衰大鼠模型上,这一产品可以阻止慢性心衰进程且效果优于临床药物右雷佐生^[11]。此外,笔者在临床使用中也发现该产品有降压的功效,但其机制尚不明确。自发性高血压大鼠(SHR)常用于高血压的病理、药理研究,其发病进程类似于人类的原发性高血压^[12-13]。

基金项目:农业部蜂产业体系蜂产品保健功能岗位科学家专项基金(编号:CARs-45-KXJ19)

作者简介:孙燕如,女,福建农林大学在读博士研究生。

通信作者:缪晓青(1959—),男,福建农林大学教授,博士生导师。

E-mail: mxqs88@126.com

收稿日期:2017-11-05

因此,考虑选用 SHR 为高血压大鼠模型,探究该产品对高血压引起的心肌肥厚的改善效果及可能的机制。

本研究拟采用转录组学技术,考察蜂胶复方产品对 SHR 大鼠心肌基因转录组水平上的差异变化,结合 GO 分析和 KEGG 通路分析,找到差异基因富集的主要代谢通路,为该蜂胶复方产品对 SHR 心肌肥厚的改善作用找到相应机制。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

蜂毒:意大利蜜蜂蜂毒,福建省神蜂科技开发有限公司;

蜂胶:意大利蜜蜂采集自杨树的蜂胶,福建省神蜂科技开发有限公司;

蜂王浆:油菜浆,福建省神蜂科技开发有限公司;

吐温-80:分析纯,国药化学试剂有限公司;

乙醇、羧甲基纤维素钠:化学纯,国药化学试剂有限公司;

RNA 提取试剂盒:TransZol® Up 型,北京全式金生物技术有限公司;

反转录试剂盒:TaKaRa PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser Kit 型,宝生物工程(大连)有限公司;

荧光定量试剂盒:SYBR® Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus) Kit 型,宝生物工程(大连)有限公司。

1.1.2 主要仪器与设备

PCR 仪:720 Thermal Cycler 型,美国 Thermo Fisher 公司;

荧光定量 PCR 检测系统:CFX384 型,美国 BioRad 公司;

测序平台:Hiseq 2500 型,美国 Illumina 公司。

1.2 方法

1.2.1 蜂胶复方产品的配制

(1) 蜂胶醇提物制备:使用 80% 乙醇按料液比 1:4 (g/mL) 对意大利蜜蜂采集的杨树蜂胶浸提,浸提程序为:40 kHz 超声预处理 20 min,60 °C 浸提 5 h,室温浸提 2 d;对浸提液真空抽滤后,滤液在 50 °C 下旋转蒸发浓缩,除蜡操作后 55 °C 下真空干燥至恒重,测定总黄酮含量为 (302.16 ± 2.33) mg/g。

(2) 蜂王浆醇提物制备:在 40 °C 下使用 95% 乙醇按料液比 1:4 (g/mL) 对油菜浆提取 3 h,4 000×g 离心 20 min 后,获得上清、对沉淀物继续按上述方法提取 2 次,最后合并滤液,65 °C 下旋转蒸发浓缩,得到蜂王浆醇提物后冷冻干燥备用,测得蜂王浆醇提物中 10-羟基-2-癸烯酸(10-HDA)含量为 (21.06 ± 0.32) %。

(3) 蜂巢水提物制备:取意大利蜜蜂陈旧巢脾(使用 3 年)磨碎,按照料液比 1:5 (g/mL) 加水煮沸 1 h,过滤后滤渣继续按上述方法处理 2 次,最终合并 3 次滤液,除蜡、浓缩、干燥至恒重。

(4) 蜂毒肽的制备:粗蜂毒溶于水后 5 000 r/min 离心 15 min,取上清、冷冻干燥。采用葡聚糖凝胶柱层析法分离

蜂毒,以 0.1 mol/L 甲酸和甲酸铵缓冲液进行 G25 柱层析,对其中溶血活性较强的组分再进行 G50 柱层析,接着以 0.02 mol/L 甲酸和甲酸铵缓冲液对分离产物进行 G75 柱层析,获得电泳纯级的终产物。

(5) 蜂胶复方产品的制备:蜂胶醇提物与蜂巢水提物按 1:1 质量比混合,加入 2% 吐温-80 后,添加蜂毒肽使得最终的产品中蜂毒肽含量为 0.12%,接着加入与蜂胶醇提物质量相等的蜂王浆醇提物。

1.2.2 动物分组与给药 40 只自发性高血压大鼠(SHR),体重 180~220 g,雄性,购于北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号为 SCXK(京)2011-0011。将 40 只大鼠随机分为模型对照组(MC)、蜂胶复方产品低、中、高剂量组(分别为 BYL-L、BYL-M、BYL-H)。按照“人与大鼠体表面积比”换算给药剂量,见式(1)。蜂胶复方产品低、中、高剂量分别是临床使用剂量的 1,2,4 倍,换算成大鼠给药量分别约为 0.5,1.0,2.0 g/kg。

$$c = \frac{m}{70} \times 6.3, \quad (1)$$

式中:

c ——大鼠给药量,g/kg;

m ——人给药量,g/kg。

1.2.3 心脏样本处理 各组大鼠给予相应药物 5 周,于末次给药后断食不断水继续饲养 24 h,处死后剖取心脏,称得心脏和左心室质量后投入液氮,-80 °C 保存。通过 SPSS v 19.0 软件对数据进行统计学分析,从蜂胶复方产品灌胃组中筛选出与 MC 组差异最大的试验组,进入下一步试验。

1.2.4 心肌转录组测序与结果分析

(1) RNA 样品制备与测序:待测组分别选取 3 只大鼠心脏样本进行 RNA 提取,富集 mRNA,加入 fragmentation buffer 使其成为短片段,再以片断后的 mRNA 为模板,用六碱基随机引物(random hexamers)合成 cDNA 第一链,并加入缓冲液、dNTPs、RNase H 和 DNA polymerase I 合成 cDNA 第二链,经过 QiaQuick PCR 试剂盒纯化并加 EB 缓冲液洗脱经末端修复、加碱基 A,加测序接头,再经琼脂糖凝胶电泳回收目的大小片段,并进行 PCR 扩增,从而完成整个文库制备工作。构建好的文库用 HiSeq™ 2500 型测序平台进行测序。

(2) 差异基因的筛选:在信息分析前对原始数据进行质控,通过数据过滤来减少数据噪音。将组装的转录本数据与参考文件基因组进行比对分析,基因表达量的计算使用 FPKM(Fragments Per Kilobase of transcript per Million mapped reads)法利用 FDR 与 $\log_2 FC$ 来筛选组间差异基因,筛选条件为 $FDR < 0.05$ 且 $|\log_2 FC| > 1$ 。接着对差异基因进行功能富集分析与 KEGG 代谢通路分析。

(3) 功能富集及 KEGG 代谢通路分析:将差异表达基因向 Gene Ontology(GO)数据库(<http://www.geneontology.org/>)的各 term 映射,并计算每个 term 的基因数,然后用超几何检验,找出与整个基因组背景相比、在差异表达基因中显著富集的 GO 条目。将 DEGs 注释到 KEGG 数据库中,根据 KEGG 数据库信息对 DEGs 进行 KEGG 通路注释。

(4) qPCR 对转录组结果的验证:从 DEGs 中随机挑选 9 个基因,通过 qPCR 结果来验证 RNA-Seq 结果的可靠性。基因引物由广州基迪奥生物技术有限公司设计并合成。RNA 提取方法如前所述,接着,根据说明书操作,使用 PrimeScript RT reagent Kit 将总 RNA 反转录成 cDNA。接着,用 SYBR 染料法在 Step One Plus Real-Time PCR System 上完成 qPCR 操作。以 GAPDH 为内参基因,使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算基因的相对表达量。

2 结果与分析

2.1 蜂胶复方对 SHR 左心室指数的影响

给药 5 周后,各组大鼠的心脏指数与左心室指数见表 1,与 MC 组相比,BYL-H 组的左心室指数有显著差异($P<0.05$),而其他几个给药组虽然在左心室指数和心脏指数上有不同程度的减轻,但均无显著差异($P>0.05$)。因此,分别从 MC 组和 BYL-H 组中随机选取 3 只大鼠的心脏进行转录组测序。

2.2 Illumina 测序数据质控与评估

对 MC 组和 BYL-H 组样本 Illumina 测序,过滤后获得的有效读段均在 95.82% 以上,两端 Q30 在 89.5% 以上,过滤后的数据有 88.42% 以上能比对到参考基因组上(表 2),表明测序数据质量较高。

2.3 DEGs 的 GO 分析

与 MC 组相比,从 BYL-H 组筛选出 1 297 个 DEGs,其

表 1 蜂胶复方产品对 SHR 心脏指数与左心室指数的影响[†]

Table 1 Effect of the propolis product on heart index and left ventricular index in SHR (n=10)

组别	左心室指数	组别	左心室指数
MC	0.280±0.015	BYL-M	0.276±0.014
BYL-L	0.280±0.010	BYL-H	0.267±0.013 *

[†] * 表示与模型组相比,P<0.05。

中 91 个 DEGs 上调、1 206 个 DEGs 下调。对所有 DEGs 进行 GO 注释,包括分子功能、细胞组分、生物过程三类。在生物过程中,注释到发育进程(developmental process)、生物黏附(biological adhesion)、运动(locomotion)、细胞成分组织或生物发生(cellular component organization or biogenesis)、定位(localization)、代谢进程(metabolic process)、单一机体进程(single-organism process)、生物调节(biological regulation)、细胞进程(cellular process)、生长(growth)、免疫进程(immune system process)、应激反应(response to stimulus)、信号传递(signaling)、生殖(reproduction)、多种机体进程(multi-organism process)、行为(behavior)、多细胞生物过程(multicellular organismal process)的 DEGs 数目分别为 410, 116, 138, 351, 346, 593, 720, 444, 886, 69, 147, 469, 403, 84, 34, 1, 152(图 1)。

表 2 测序数据分析

Table 2 Analysis of transcriptome sequencing data

样品编号	原始读段	有效读段情况			与参考基因组相比				
		有效读段 (有效读段百分比)	99%碱基正确 率 Q20/%	GC 含量/ %	比对上的 总读段	未比对上的 读段	唯一比 对读段	多比对 读段	比对率/ %
MC-1	45 130 504	43 177 846(95.67%)	96.38	52.23	41 537 076	4 323 817	36 310 587	902 672	89.59
MC-2	48 893 904	46 969 666(96.06%)	96.50	53.16	45 934 946	4 323 817	40 455 310	1 171 138	90.62
MC-3	40 859 596	39 151 470(95.82%)	96.40	52.24	38 234 978	4 000 165	33 416 171	818 642	89.54
BYL-H-1	42 211 378	40 539 862(96.04%)	96.46	51.23	38 773 434	4 490 748	33 480 918	801 768	88.42
BYL-H-2	50 807 492	48 879 912(96.21%)	96.49	51.69	46 285 712	5 142 384	40 112 762	1 030 566	88.89
BYL-H-3	48 902 702	47 158 232(96.43%)	96.71	50.76	45 064 582	4 924 176	39 268 152	872 254	89.07

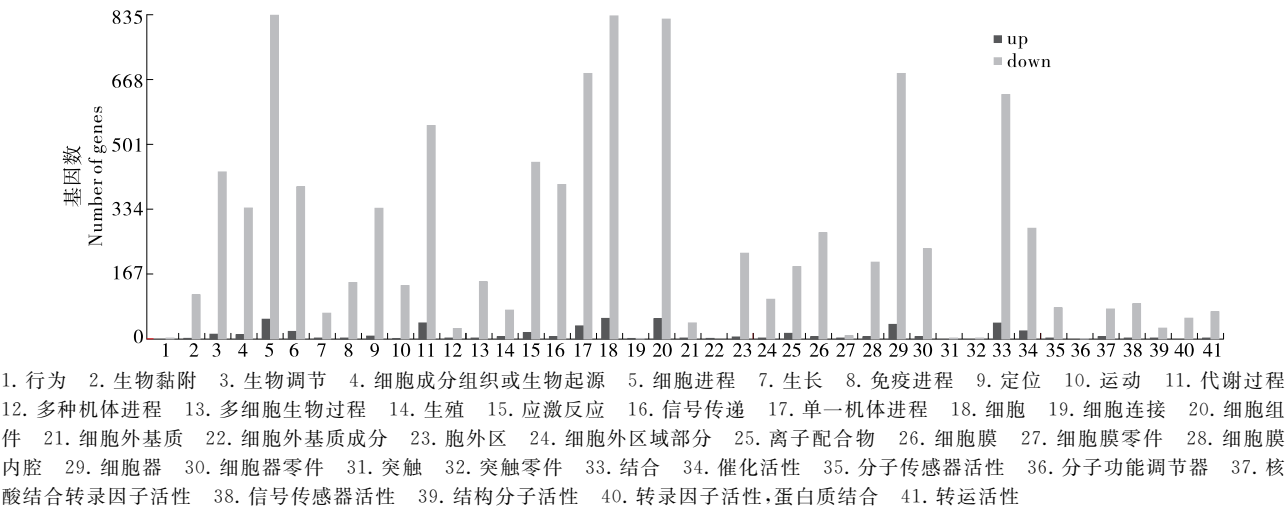


图 1 GO term 分类结果

Figure 1 Results of GO term classification

2.4 DEGs 的 KEGG 富集分析

不同基因之间相互协调,方得以行使生物学功能,基于 pathway 的分析有助于更进一步了解基因的生物学功能。对所有 DEGs 进行 KEGG 富集,共有 410 个 DEGs(24 个上调、386 个下调)可富集到 KEGG 数据库,说明给予蜂胶复方产品后引起了多个代谢通路的变化,图 2 列出了差异最显著的前 20 个 pathway。在前 10 个 pathway 中,富集到黏着斑、胰岛素信号通路、长寿调节通路-多个物种、长寿调节通路-哺乳动物、细胞外基质受体相互作用、PI3K-Akt 信号通路、肌动蛋白细胞骨架调节、唾液分泌、背腹轴形成、MAPK 信号通路的 DEGs 数目分别为 36,24,15,18,17,39,28,14,8,31,提示该蜂胶复方产品可能在炎症反应、能量代谢、信号转导等方面对 SHR 心肌产生影响。有趣的是,DEGs 富集较多的 3 个代谢通路——PI3K-Akt 信号通路、胰岛素信号通路、MAPK 信号通路是介导病理性心肌肥厚的主要通路^[5]。PI3K-Akt 信号通路和 MAPK 通路是胰岛素和胰岛素受体结合后,经不同信号蛋白转导而激活的两个主要通路,与胰岛素信号通路密切相关,提示蜂胶复方产品可能通过影响胰岛素相关信号通路而改善 SHR 心肌肥厚。

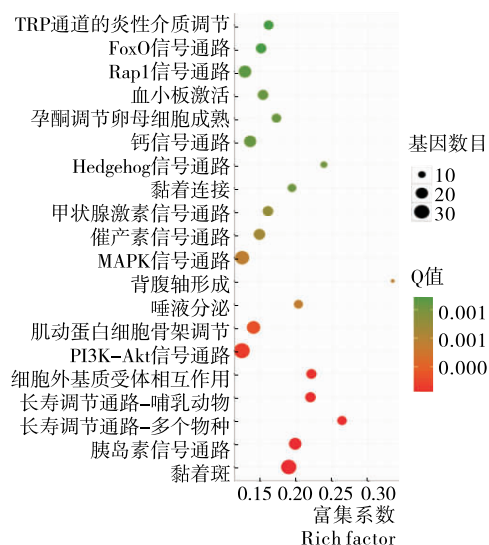


图2 差异基因富集显著的前20个KEGG富集图

Figure 2 Top 20 KEGG enriched graph with significant DEGs

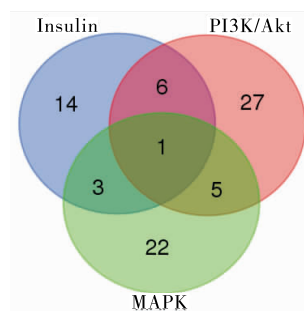
2.5 胰岛素信号通路相关基因的筛选

图3是胰岛素信号通路、PI3K-Akt信号通路、MAPK信号通路重叠基因的韦恩图。3个通路共同的DEGs是mitogen activated protein kinase 1 (MAPK1);胰岛素信号通路与PI3K-Akt通路共同的DEGs为:phosphoinositide-3-kinase regulatory subunit 1(Pik3r1)、protein kinase AMP-activated catalytic subunit alpha 2 (Prkaa2)、insulin receptor substrate 1 (Irs1)、glycogen synthase kinase 3 beta (Gsk3b)、3-phosphoinositide dependent protein kinase-1 (Pdkp1)、tuberous sclerosis 1(Tsc1);胰岛素信号通路与MAPK通路共同的DEGs为:crk-like protein-like、CRK proto-oncogene、adaptor protein (Crk)、protein kinase cAMP-activated

catalytic subunit beta (Prkacb)。与MC组相比,以上各差异基因在BYL-H组中均为下调(表3)。

胰岛素信号通路、PI3K-Akt信号通路、MAPK通路共同的DEG为MAPK1,即ERK2。心肌肥厚的过程中,心脏的机械负荷增加,局部和系统的神经体液因子、细胞因子和生长因子增加,机械和神经内分泌的效应器通过伸展、G蛋白偶联受体和酪氨酸激酶来诱导多种细胞内信号包括细胞外信号调节激酶1/2(ERK1/2)路的激活^[14]。由于大多数刺激引起心肌肥厚的刺激,也会在ERK1和ERK2激酶激活环内引发一种急性磷酸化作用,导致它们的激活,因此ERKs长期以来被认为是心脏肥大的促进剂^[14]。在本试验中,BYL-H心肌的ERK2的表达量与MC组的相比,显著降低,与异钩藤碱^[6]、法舒地尔^[15]等降低ERK2mRNA表达量、改善心脏功能的结果一致。

胰岛素和胰岛素受体结合会导致胰岛素受体底物(IRS)的酪氨酸磷酸化,激活的胰岛素受体与IRS和其他蛋白相互作用,激活包括PI3K-Akt和MAPK通路在内的多个通路。心脏中,IRS1和IRS2是表达量最高的IRS蛋白,对胰岛素调控激活PI3K起重要作用^[16]。PI3K由p110催化亚基和p85调控子单元组成,催化生成脂质产物PIP₃,进而导致PDK1调控的Akt的激活。Akt通过磷酸化蛋白来调节各种细胞过程,在心脏中表达最多的是Akt1和Akt2,前者主要调控体细胞生长,后者主要与代谢相关。由Akt介导的磷酸化作用抑制了GSK3 β 活性,从而促进了心脏肥大和糖原的合成;Akt介导调节的TSC1磷酸化可调控mTOR的激活,而mTOR激活后可促进蛋白质的合成。胰岛素信号通路中,与IRS相互作用的其他转导蛋白包括GRB2,GRB2是导致MAPK激活的SOR、RAS、RAF和MEK串联的一部分,MAPK通路在细胞增殖、分化、迁移中起着重要作用。在试验中,BYL-H组心脏样本中的IRS1、PI3K γ 、GSK3 β 等胰岛素信号通路与PI3K-Akt信号通路的重要基因的表达量相较于MC组明显下降。PI3K是一种细胞内磷脂酰肌醇激酶,调节细胞功能。PI3K有多个亚型,其中PI3K- α 和 γ 在心脏中表达、且发挥重要作用,抑制PI3K- γ 可保护心衰时 β 1-AR下调而改善心肌功能^[17]。GSK3 β 是多种重要信号转导过程中起关键作用的酶^[18]。心肌肥大过程中,细胞外刺激信号激活



3个KEGG通路分别是:Insulin,胰岛素信号通路;PI3K-Akt,PI3K-Akt信号通路;MAPK,MAPK信号通路

图3 DEGs富集数目最多的前3个KEGG通路中重叠的基因

Figure 3 Overlapping genes in the top 3 KEGG pathway

表 3 胰岛素信号通路与 PI3K-Akt 信号通路和 MAPK 信号通路的重叠 DEGs

Table 3 Overlapping DEGs of insulin signaling pathway with PI3K-Akt signaling pathway and/or MAPK pathway

通路	基因 ID	基因名称	描述	log ₂ (FC)
胰岛素信号通路、PIT3-Akt 信号通路、MAPK 信号通路	K04371	<i>Mapk1</i>	有丝分裂原激活蛋白激酶 1	-1.056 5
胰岛素信号通路、PIT3-Akt 信号通路	K16172	<i>Irs1</i>	胰岛素受体底物 1	-1.182 0
	K02649	<i>Pik3r1</i>	磷酸肌醇 3 激酶调节亚单位 1	-1.291 1
	K06276	<i>Pdpk1</i>	3-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 1	-1.780 9
	K07206	<i>Tsc1</i>	结节状硬化 1	-1.813 1
	K03083	<i>Gsk3b</i>	糖原合成酶激酶 3β	-1.125 6
	K07198	<i>Prkaa2</i>	蛋白激酶 AMP 激活催化亚单位 α2	-2.169 9
胰岛素信号通路、MAPK 信号通路	K04438	<i>LOC100911248</i>	crk 样蛋白类似物	-1.542 8
	K04438	<i>Crk</i>	接头蛋白 CRK	-1.596 0
	K04345	<i>Prkacb</i>	蛋白激酶 Camp 激活的催化亚基 β	-1.351 4

了 PI3K-Akt 通路中的 Akt,造成其下游 GSK3β 磷酸化、导致 GSK3β 的失活,进而导致心肌肥大的发生。GSK3β 在 Tyr216 位点磷酸化时,GSK3β 活性增加,而在 Ser9 位点磷酸化时,GSK3β 活性受到抑制,活化的 GSK3β 可以阻止心肌肥厚的发展^[19]。转录组数据表明,当灌胃蜂胶复方产品后,GSK3β 在 SHR 心肌中的表达量下降了,但 GSK3β 的活性是否改变、如何改变需要进一步研究。

2.6 qPCR 验证结果

为证实 RNA-Seq 数据的可靠性,随机挑选 9 个基因进行 qPCR 验证。这 9 个基因分别是 *Gadd45g* (Gene ID: 291005)、*MAPK1* (Gene ID: 116590)、*Eif4g1* (Gent ID: 287986)、*Otud1* (Gene ID: 498803)、*Clic4* (Gene ID:

83718)、*Usmg5* (Gene ID: 103693430)、*Mt-nd4* (Gene ID: 26201)、*Mt-nd3* (Gene ID: 26199)、*Mt-atp6* (Gene ID: 26197)。如图 4 所示,经 qPCR 验证,这些被选基因的相对定量表达模式与 RNA-Seq 测序结果一致,表明测序结果是可靠的。

3 结论

本试验以 SHR 为受试动物,通过左心室指数的计算确定蜂胶复方产品对心肌肥厚的干预效果,及药效最佳剂量组 (BYL-H 组)。接着使用 RNA-Seq 技术对 BYL-H 组和 MC 组的转录组数据进行分析,找出了 1 297 个 DEGs,将这些 DEGs 进行 KEGG 代谢通路富集分析,发现富集到与胰岛素代谢相关的几个通路(即胰岛素信号通路、PI3K-Akt 信号通

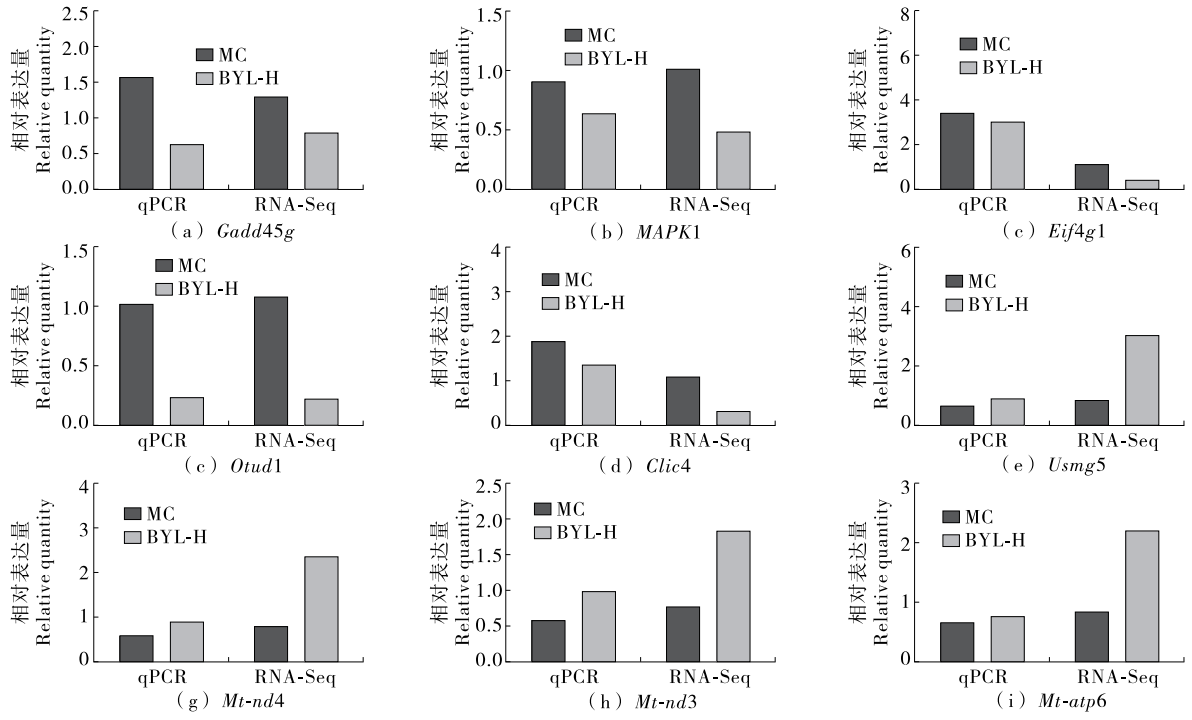


图 4 基因相对定量结果

Figure 4 Relative gene expression levels of candidate genes. Data from qPCR and RNA-Seq both are means of three replicates

路、MAPK 信号通路)上的 DEGs 数目较多,提示蜂胶复方产品可能通过调节胰岛素代谢通路改善 SHR 的心肌肥厚,而在胰岛素信号通路上对 ERK2、PI3K- γ 等下调表达的效果可能是蜂胶复方产品作用到 SHR 心肌肥厚的靶点。

后续研究还可以从该蜂胶复方产品对 ERK2、PI3K- γ 等基因的磷酸化和非磷酸化蛋白的表达水平差异入手,对相关基因的激活或抑制情况作进一步探究。

参考文献

- [1] MENSAH G A, CROFT J B, GILES W H. The heart, kidney, and brain as target organs in hypertension [J]. *Curr Probl Cardiol*, 2003, 28(2): 156-193.
- [2] KATHOLI R E, COURI D M. Left ventricular hypertrophy: major risk factor in patients with hypertension: update and practical clinical applications[J]. *International Journal of Hypertension*, 2011, 2011: 1-10.
- [3] SCHIRONE L, FORTE M, PALMERIO S, et al. A review of the molecular mechanisms underlying the development and progression of cardiac remodeling [J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 2017: 3920195.
- [4] 刘丽娜,李法琦. 心肌肥厚相关信号通路的研究进展[J]. *重庆医学*, 2010(20): 2805-2808.
- [5] 张勇涛,蒋凡. 生理性和病理性心肌肥厚的信号传导机制[J]. *中华心血管病杂志*, 2015, 43(3): 277-280.
- [6] 徐洋,李强,侯化化,等. 异钩藤碱通过下调 CaN、ERK2 和上调 MKP-1 的表达抑制大鼠心肌细胞肥大[J]. *遵义医学院学报*, 2013, 36(3): 210-217.
- [7] 吴赛,姜月华,杨传华,等. 半夏白术天麻汤对痰湿壅盛型高血压大鼠心肌 MAPK 信号通路的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016(8): 159-165.
- [8] 叶强,陈良海,刘应才,等. 辛伐他汀通过 Akt/GSK3 β 通路抑制心肌梗死后心肌细胞凋亡[J]. *中国药理学通报*, 2011(12): 1656-1660.
- [9] 薛一涛,陈炜,刘鹏,等. 复心汤对心力衰竭大鼠 PI3K-Akt-GSK3 β 通路的影响[J]. *上海中医药杂志*, 2015(8): 74-78.
- [10] 刘婕,高虹,缪晓青. 宝元灵对离体蛙心脏收缩功能的影响[J]. *华西药理学杂志*, 2014(2): 140-142.
- [11] LIU Jie, GAO Hong, FU Ming-ju, et al. Therapeutic efficacy of bee venom compound preparation bao yuan ling on rats with chronic heart failure[J]. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2014, 13(13): 801-806.
- [12] TRIPPODO N, FROHLICH E. Similarities of genetic (spontaneous) hypertension. Man and rat[J]. *Circulation Research*, 1981, 48(3): 309-319.
- [13] FROHLICH E D. Is the spontaneously hypertensive rat a model for human hypertension? [J]. *Journal of Hypertension Supplement Official Journal of the International Society of Hypertension*, 1986, 4(4): S15-S19.
- [14] MUTLAK M, KEHAT I. Extracellular signal-regulated kinases 1/2 as regulators of cardiac hypertrophy[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2015, doi: 10.3389/fphar.2015.00149.
- [15] 程杰坤,孙小慧,高莉萍,等. 法舒地尔对异丙肾上腺素诱导大鼠心肌肥厚的干预作用及其机制[J]. *中国应用生理学杂志*, 2016, 32(5): 414-418.
- [16] RIEHLE C, ABEL E D. Insulin Signaling and Heart Failure [J]. *Circulation Research*, 2016, 118(7): 1151-1169.
- [17] 范婷婷,刘琼. 姜黄素对脂多糖诱导的心肌功能障碍小鼠 PI3K- γ 表达的影响[J]. *重庆医科大学学报*, 2014(10): 1368-1372.
- [18] MICHAEL A, HAQ S, CHEN Xin, et al. Glycogen synthase kinase-3 β regulates growth, calcium homeostasis, and diastolic function in the heart[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(20): 21383-21393.
- [19] SUGDEN P, FULLER S, WEISS S, et al. Glycogen synthase kinase 3 (GSK3) in the heart: a point of integration in hypertrophic signalling and a therapeutic target? A critical analysis [J]. *British Journal of Pharmacology*, 2008, 153: S137-S153.

信息窗

韩国发布 2018 年食品安全相关主要政策

2017 年 12 月 27 日,韩国食品药品安全部与农林畜产食品部联合发布了 2018 年韩国食品安全、支援主要政策:

(1) 1 月:食品主标示面上以表格、段落进行标示并统一扩大字体大小;合并食品和畜产品的法规标准;室温保管饮料类和发酵乳类可冷冻之后进行销售;发酵醋制造加工过程中可使用橡木片(棒);果酒中以增香为目的所使用橡木片(棒)允许使用于发酵醋的制作、加工过程中;对农产品出口企业适用订制型出口支援制度;改善食品名人指定评价标准及管理体系。

(2) 2 月:构筑国家水产品残留物质检测(NRP)体系,在政府角度对大量消费水产品相关抗生素等残留物检测

方法及科学性风险评估等进行系统化管理。

(3) 3 月:支援中小食品企业利用保证保险购买国产农畜产品。

(4) 6 月:对健康功能食品强制适用流通履历追溯制度范围扩大。以 2016 年销售额为基准,其范围扩大到销售额为 1 亿以上的进口健康功能食品中。

(5) 12 月:强制适用优秀健康功能食品制造基准(GMP);对火腿、香肠、汉堡肉饼等食用肉加工品种强制适用 HACCP。

(来源: <http://www.cifst.org.cn>)