

黄芪颗粒对病毒性心肌炎模型大鼠心肌细胞中Cav-3、Smad3表达的影响

李丽燕*,俞金正,沈群(永康市中医院药剂科,浙江永康 321300)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)25-3509-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.25.16

摘要 目的:研究黄芪颗粒对病毒性心肌炎模型大鼠心肌细胞中小凹蛋白3(Cav-3)和Smad家族蛋白3(Smad3)表达的影响。方法:将90只大鼠随机分为正常组、模型组、参麦注射液组[阳性药物,0.2 g/(kg·d)]和黄芪颗粒低、中、高剂量组[0.42、0.84、1.68 g/(kg·d)],每组15只。除正常组外,其余各组大鼠均ip CVB3病毒复制病毒性心肌炎模型。造模同时各给药组大鼠ig相应药物,正常组和模型组大鼠ig生理盐水,连续15 d。各组分分别于给药3、9、15 d后取5只大鼠进行实验,观察大鼠心肌组织病理改变,并进行评分;检测心肌细胞中Cav-3、Smad3 mRNA及其蛋白的表达。结果:给药15 d后,与正常组比较,模型组大鼠心肌纤维大量增生,发生明显病变,病理评分和心肌细胞中Cav-3、Smad3 mRNA及其蛋白水平明显升高($P<0.05$);与模型组比较,各给药组大鼠心肌组织病变得到改善,病理评分和心肌细胞中Cav-3、Smad3 mRNA及其蛋白水平明显降低($P<0.05$)。结论:黄芪多糖可明显下调病毒性心肌炎模型大鼠心肌细胞中Cav-3、Smad3基因的表达,推测是其防治病毒性心肌炎的作用机制之一。
关键词 黄芪颗粒;病毒性心肌炎;小凹蛋白3;Smad家族蛋白3;大鼠

Effects of Astragalus Granules on the Cav-3 and Smad3 Expression in the Myocardial Cells of Rats with Viral Myocarditis

LI Lian, YU Jinzheng, SHEN Qun (Department of Pharmacy, Yongkang Hospital of TCM, Zhejiang Yongkang 321300, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of Astragalus granules on the expression of Caveolin-3 (Cav-3) and Smad family member 3 (Smad3) in the myocardial cells of rats with viral myocarditis. METHODS: 90 rats were randomly divided into a normal group, a model group, a Shenmai injection group [positive drug, 0.2 g/(kg·d)] and the groups of low, medium and high-dose Astragalus granules [0.42, 0.84, 1.68 g/(kg·d)], with 15 rats in each group. The rats in all groups except for the normal group were given CVB3 ip for the establishment of viral myocarditis model. Meanwhile, the rats in the drug administration groups were given corresponding drugs ig, while those in the normal group and the model group were given normal saline ig, for 15 consecutive days. 5 rats were selected from each group respectively on the 3rd, 9th and 15th days of drug use to take an experiment. For the rats, the pathological change of the cardiac muscle tissue was observed and scored, and the mRNA and protein expression of Cav-3 and Smad3 in the myocardial cells were detected. RESULTS: After 15 days of drug use, compared to the normal group, the rats of the model group had hyperplasia of a large number of cardiac muscle fibers, obvious lesions at cardiac muscle fibers, and significantly higher pathological score and levels of the mRNA and protein expression of Cav-3 and Smad3 in the myocardial cells ($P<0.05$). Compared to the model group, the rats in the drug administration groups had cardiac muscle tissue lesions improved and had obviously lower pathological score and levels of the mRNA and protein expression of Cav-3 and Smad3 in the myocardial cells ($P<0.05$). CONCLUSIONS: Astragalus granules can markedly downregulate the gene expression of Cav-3 and Smad3 in the myocardial cells of rats with viral myocarditis, which is inferred as a prevention and treatment mechanism of viral myocarditis.

KEYWORDS Astragalus granules; Viral myocarditis; Caveolin-3; Smad family member 3; Rats

病毒性心肌炎(Viral myocarditis, VMC)是一种嗜心肌性病毒在心肌细胞内复制导致的儿科常见心血管疾病,以心肌变性、坏死、间质炎症细胞浸润及纤维渗出为主要病理改变,其病原体包括柯萨奇病毒、埃可病毒、脊髓灰质炎病毒、腺病毒等,且近年来VMC的发病率呈上升趋势^[1]。VMC本身属急症,可导致心力衰竭或心源性休克甚至猝死,目前国内外对该病尚缺乏有效的治疗药物和措施。

黄芪系豆科黄芪属植物,其提取物包含黄芪甲苷、黄芪皂苷及黄芪多糖等主要成分,在黄芪提取物制品中临床主要以黄芪颗粒和黄芪注射液两种剂型最为常用。实验证实,黄芪

*主管药师。研究方向:药理学。电话:0579-89277080。E-mail: 497645135@qq.com

提取物具有益气扶正、增强免疫、抑制肿瘤、减毒增效等功效^[2],然而其作用机制尚未完全明确。小凹蛋白3(Caveolin-3, Cav-3)在心肌细胞的信号转导中有重要作用,参与维持心肌的发育和能量代谢;Smad家族蛋白3(Smad 3)参与了心肌细胞的凋亡过程,与Cav-3在VMC的发病过程中共同发挥重要作用^[3]。因此,本研究采用CVB3病毒感染,复制VMC大鼠模型,以黄芪颗粒进行治疗,考察黄芪颗粒对大鼠心肌细胞Cav-3、Smad3表达的影响,分析其防治VMC的可能作用机制,为其临床应用提供一定的基础实验依据。

1 材料

1.1 仪器

Mini Protean 3 Cell垂直型电泳仪、Bio-Rad iQ5实时荧光

定量聚合酶链反应(RT-PCR)仪(美国Bio-Rad公司);Allegra 25R 高速冷冻离心机(美国Beckman公司);IX73 倒置显微镜(日本Olympus公司)。

1.2 药品与试剂

黄芪颗粒[南京同仁堂药业有限公司,批号:140604,规格:15 g/袋];参麦注射液(上海医药正大青春宝药业有限公司,批号:151103,规格:2 g:10 ml); β -actin 兔抗单克隆抗体、兔抗 Cav-3、Smad3 一抗(北京博奥森生物公司,批号:bs-0061R、bs-3610R、bs-3484R);Trizol、RT-PCR 试剂盒(江苏恩莫阿赛生物科技有限公司,批号:N2015031152、P2014061181);其余试剂为分析纯。

1.3 动物与病毒株

健康SD大鼠90只,♀♂不限,体质量(182.6±35.7)g,鼠龄7~9周,由辽宁医学院实验动物中心提供[合格证号:SYXK(辽)2005-0013]。

CVB3病毒株由武汉大学病毒学研究所提供。

2 方法

2.1 分组、造模与给药

大鼠普通饮食、自由饮水,适应性饲养1周后,采用苦味酸标记头部及四肢。然后将大鼠随机分为6组,即正常组,模型组、参麦注射液组和黄芪颗粒低、中、高剂量组,每组15只。除正常组外,其余各组大鼠ip CVB3 稀释液(0.2 ml)复制VMC模型^[4],每隔4 d注射1次;正常组大鼠ip 等体积不含病毒的培养液。造模同时,正常组和模型组大鼠ig 生理盐水20 ml/(kg·d);黄芪颗粒低、中、高剂量组大鼠分别ig 黄芪颗粒0.42、0.84、1.68 g/(kg·d)(分别由成人临床用量的1、2、4倍剂量换算而得);参麦注射液组大鼠ip 参麦注射液0.2 g/(kg·d)^[6]。每天根据大鼠体质量调整给药剂量,连续15 d;并每天观察各组大鼠饮食、活动、毛色、排泄等一般情况,以考察毒性作用。

2.2 心肌组织病理观察与评分

分别于给药后3、9、15 d 各组随机取5只大鼠称质量、脱臼处死,迅速取出心脏用生理盐水冲洗干净后,用剪刀沿中轴线剪为两半。一半经4%多聚甲醛固定后,常规石蜡包埋制作组织切片,然后行苏木精-伊红(HE)染色分析组织病理变化;另一半保存于液氮中。HE染色后以倒置显微镜观察并计算炎症细胞浸润、心肌坏死面积占整个切片心肌面积的百分比。心肌组织炎症、坏死病理变化半定量评分参照文献[3]中方法。无炎症细胞浸润、心肌坏死,计0分;炎症细胞浸润、心肌坏死面积<25%,计1分;炎症细胞浸润、心肌坏死面积为25%~50%,计2分;炎症细胞浸润、心肌坏死面积为50%~75%,计3分;炎症细胞浸润、心肌坏死面积>75%,计4分。

2.3 心肌细胞中 Cav-3、Smad3 mRNA 表达的测定

采用RT-PCR法。称取给药15 d后的心肌组织,匀浆,按Trizol 试剂盒说明书操作提取总RNA,测定其纯度后,将总RNA 逆转录成cDNA,作为PCR反应模板。甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH,内参)引物上游序列:5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3',下游序列:5'-TCCACCACCCTGTTCTGTA-3';Cav-3 引物上游序列:5'-TCAAGGACATTCAGTCAAGG-3',下游序列:5'-AAGAGCGGGTTGCAGAAGGTGC-3';Smad3 引物上游序列:5'-CCCAAGCTTTCGTCCATCCTGCCTTTC-3',下游序列:5'-GGAATTCCTAAGACACACTGGAACAGCG-3'。用RT-PCR仪进行引物扩增,设置反应条件为:95°、30s;95°、5s,60°、34s,40个循环;95°、15s。计算目的基因的 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 值^[6],以此值为参数进行半定量分

析。实验重复3次。

2.4 心肌细胞中 Cav-3、Smad3 蛋白表达的测定

采用Western blot法。称取给药15 d后的大鼠心肌组织0.5 g,加入1 ml RIPA 裂解缓冲液冰浴研磨。在4℃下,以离心半径为10 cm、12 000 r/min 离心15 min,取上清,采用考马斯亮蓝法检测蛋白浓度。取上述制备的蛋白样品50 μ g 上样到15%聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)凝胶中,电泳后将蛋白电转至硝酸纤维素膜(NC膜),用5%脱脂奶粉封闭,分别加一抗(兔抗 Cav-3、Smad3 抗体,稀释比例为1:1 000),37℃ 孵育2 h,0.1% 三羟甲基氨基甲烷盐酸盐溶液(TBST)漂洗,然后加二抗[辣根过氧化物酶标记山羊抗兔免疫球蛋白(IgG)(H+L),稀释比例为1:2 000],室温孵育2 h;TBST 洗膜,增强化学发光液(ECL)显影,X光胶片定影。采用凝胶分析软件Quantity One 扫描条带灰度值,以目的蛋白灰度值与 β -actin(内参)灰度值的比值表示目的蛋白的相对表达量。试验重复3次。

2.5 统计学方法

采用SPSS 19.0 软件进行统计学分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 一般情况观察结果

正常组大鼠毛色光泽,饮食正常,对刺激反应灵敏,动作敏捷,无死亡情况。模型组大鼠在造模第3天开始出现少食、毛色灰暗、活动减少、对刺激反应迟缓等现象,随着时间的延长出现拱背、腹泻、四肢肿胀等现象,且出现3例死亡。各给药组大鼠在给药9 d后出现毛色变灰暗、毛倒竖、活动及进食减少等现象,并出现轻微腹泻、运动迟缓等症状;给药15 d后逐渐恢复正常,进食增加,活动增多,无死亡情况,较模型组相对活跃。

3.2 各组大鼠心肌组织病理观察结果

正常组大鼠心肌组织正常,无病理损伤。模型组大鼠在造模3 d后开始出现炎症反应,有炎性细胞浸润、心肌细胞肿胀、纹肌细胞出现坏死、局部纤维增生现象;9 d后出现炎症性坏死、坏死区域增大的变化;15 d后炎性细胞浸润被吸收、心肌纤维大量增生,病理评分较正常组明显升高($P < 0.05$)。黄芪颗粒各剂量组及参麦注射液组大鼠病理变化有所改善,给药15 d后各给药组大鼠病理评分均明显降低($P < 0.05$)。各组大鼠病理切片见图1,病理评分结果见表1。

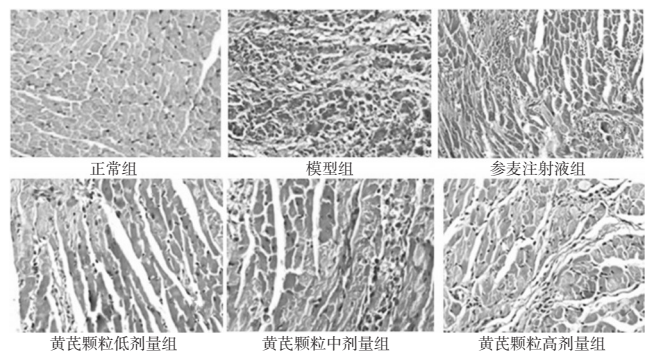


图1 给药15 d后各组大鼠心肌组织切片图(HE染色,×400)
Fig 1 The cardiac muscle tissue sections of rats in all groups after 15 days of drug use(HE staining, ×400)

3.3 各组大鼠心肌细胞 Cav-3、Smad3 mRNA 及其蛋白表达测定结果

与正常组比较,模型组大鼠心肌细胞 Cav-3、Smad3 mRNA

表1 给药15 d后各组大鼠病理评分结果($\bar{x} \pm s, n=5$)

Tab 1 Pathological scores of rats in all groups after 15 days of drug use ($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	病理评分
正常组	0
模型组	3.64 ± 0.31*
参麦注射液组	2.26 ± 0.22#
黄芪颗粒低剂量组	3.01 ± 0.24#
黄芪颗粒中剂量组	2.35 ± 0.26#
黄芪颗粒高剂量组	2.21 ± 0.18#

注:与正常组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,# $P < 0.05$

Note: vs. normal group, * $P < 0.05$; vs. model group, # $P < 0.05$

及其蛋白表达均增加($P < 0.05$);与模型组比较,各给药组大鼠心肌细胞中Cav-3、Smad3 mRNA及其蛋白表达均减少($P < 0.05$)。各组大鼠心肌细胞Cav-3、Smad3 mRNA及其蛋白表达测定结果见表2,蛋白表达电泳图见图2。

表2 各组大鼠心肌细胞Cav-3、Smad3 mRNA及其蛋白表达测定结果($\bar{x} \pm s, n=5$)

Tab 2 The levels of the mRNA and protein expressions of Cav-3 and Smad3 in the myocardial cells of rats in all groups ($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	Cav-3		Smad3	
	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白
正常组	0.25 ± 0.06	0.24 ± 0.06	0.42 ± 0.08	0.35 ± 0.07
模型组	0.48 ± 0.10*	0.47 ± 0.11*	0.71 ± 0.12*	0.64 ± 0.13*
参麦注射液组	0.31 ± 0.06#	0.30 ± 0.05#	0.51 ± 0.10#	0.44 ± 0.09#
黄芪颗粒低剂量组	0.42 ± 0.08#	0.41 ± 0.09#	0.63 ± 0.12#	0.56 ± 0.11#
黄芪颗粒中剂量组	0.35 ± 0.07#	0.36 ± 0.06#	0.57 ± 0.10#	0.50 ± 0.09#
黄芪颗粒高剂量组	0.30 ± 0.08#	0.29 ± 0.07#	0.49 ± 0.09#	0.42 ± 0.08#

注:与正常组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,# $P < 0.05$

Note: vs. normal group, * $P < 0.05$; vs. model group, # $P < 0.05$

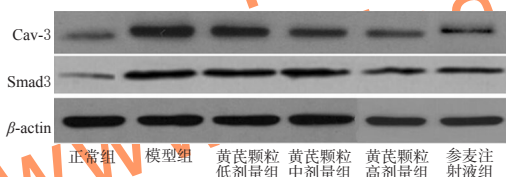


图2 各组大鼠心肌细胞Cav-3、Smad3蛋白表达电泳图

Fig 2 The electrophoregrams of Cav-3 and Smad3 protein expressions in the myocardial cells of rats in all groups

4 讨论

近年抗生素的广泛使用使病毒性心肌炎在儿童及青少年中的发病率逐年上升,其发病机制尚未完全清楚。心肌纤维化、免疫机制等均涉及其中^[7-9],病毒的直接损伤是最直接的因素,其中以CVB3病毒最为常见^[9]。CVB3病毒首先通过心肌细胞表面的柯萨奇-腺病毒受体(CAR)黏附于心肌细胞,同时利用补体缺陷蛋白-衰老加速因子(DAF)作为协同因子,使病毒发生构象改变^[10],然后将RNA释放到基质中,再利用宿主细胞自身蛋白合成系统合成病毒蛋白。研究显示,感染CVB3病毒的心肌细胞通过蛋白激酶2A分解心肌细胞中抗萎缩糖蛋白复合物,进而损伤心肌细胞骨架结构,导致心肌功能障碍^[11]。

目前关于VMC尚无特效治疗方法,临床主要采用对症支持治疗、调节机体免疫力以及抗病毒治疗为主。研究表明,病毒感染初期给予抗病毒药物干预能够显著提高VMC模型动物的生存率,因此早期抗病毒药物的应用对抗病毒有重要作用,但目前国内外对于VMC的治疗尚缺乏安全、有效的药

物。近年,对中医药的抗病毒活性及保护心肌损伤的研究逐渐引起研究者的关注。黄芪在临床上能有效治疗病毒性心肌炎,改善VMC患者的临床症状,改善心脏早搏情况,缩短心肌损伤恢复时间^[12-13]。李芳等^[14]研究显示,黄芪能够降低感染CVB3后大鼠心脏组织的CAR表达,从而减轻CVB3病毒对心肌的损害。参麦注射液是由生脉散衍生而来,主要成分为红参和北五味子,具有正性肌力、增加心肌收缩力、增加每搏输出量及冠状动脉流量的作用,可改善心肌缺氧状况、降低心肌耗氧量、改善心律失常等,临床研究证实其可明显改善VMC患者病理症状,因此在本研究中笔者以其为阳性药物。

Cav-3是表达于心肌和骨骼肌细胞的信号分子支架蛋白和负性调节蛋白,能够与下游信号分子结合,调节细胞对外界刺激的应答。多数学者认为VMC的发展与心肌细胞纤维化密切相关。心肌细胞外基质中的胶原纤维大量聚集,心肌纤维化在其中有重要作用,而转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)作为公认的调节心肌纤维化的关键因子,可激活Smad3,从而参与心肌细胞炎症的发生。而心肌细胞内TGF- $\beta 1$ 的活性又受到Cav-3的调控^[15],因此Cav-3与Smad3通过TGF- $\beta 1$ 的桥梁作用,在心肌炎症的发生发展中共同发挥重要的作用。本研究结果显示,CVB3感染大鼠心肌细胞中Cav-3、Smad3 mRNA及其蛋白的表达显著升高;经过黄芪颗粒给药后大鼠心肌细胞中Cav-3、Smad3 mRNA及其蛋白的表达显著降低,且心肌组织病理损伤较模型组亦显著改善,这提示黄芪颗粒可能通过调节心肌细胞中Cav-3、Smad3的表达发挥治疗VMC的作用。

综上所述,黄芪颗粒能够显著改善CVB3感染大鼠心肌组织的病理损伤,具有抗CVB3感染的作用,其作用机制可能与下调心肌细胞中Cav-3、Smad3基因的表达有关。

参考文献

- [1] Patil KG, Salagre SB, Itolika SM. Left ventricular non-compaction with viral myocarditis: a rare presentation of a rarer disease[J]. *J Assoc Physicians India*, 2014, 62(3):261.
- [2] 廖晖,梁红萍,胡玲,等.黄芪提取物抑制小鼠巨噬细胞一氧化氮生成及对 α -葡糖苷酶活性的影响作用[J]. *中国药房*, 2015, 26(1):33.
- [3] Rezkalla S, Kloner RA, Khatib G, et al. Effect of metoprolol in acute coxsackievirus B3 murine myocarditis[J]. *J Am Coll Cardiol*, 1988, 12(2):412.
- [4] 徐惠梅,崔欣,海锦歌,等.心乐胶囊对病毒性心肌炎小鼠MMP-1、TIMP-1蛋白水平的影响[J]. *黑龙江中医药*, 2015, 44(2):38.
- [5] 焦宏,任炜,陈彦静,等.参麦注射液对AMI大鼠血浆及心肌组织中Ang II含量的影响[J]. *山东医药*, 2007, 47(16):14.
- [6] 陈修漾,陈达灿,陈建宏,等.肝肾不足型重型斑秃患者血皮质醇及糖皮质激素受体mRNA的表达状况[J]. *南方医科大学学报*, 2012, 32(2):230.
- [7] 何梅,罗梦林,陈路佳,等.黄芪注射液辅助治疗病毒性心肌炎的系统评价[J]. *中国药房*, 2010, 21(48):4570.
- [8] 徐海鹰,王宁夫,于忠,等.病毒性心肌炎患者细胞免疫功能检测的临床价值[J]. *中华医院感染学杂志*, 2012, 22(14):3059.
- [9] 林清,马会霞,高秀娟,等.抗柯萨奇病毒B病毒性心肌炎胶囊复方提取物对病毒性心肌炎小鼠心肌的保护作用[J]. *中国老年学杂志*, 2015, 35(6):1609.

聚异丁烯骨通贴膏经皮肤给药的安全性研究

杜婕莹^{1,2*}, 曾森³, 王璐³, 舒磊⁴, 张首亚⁴, 袁捷^{4#} (1.广州市妇女儿童医疗中心, 广州 510623; 2.广州中医药大学中药学院, 广州 510445; 3.桂林华润天和药业有限公司, 广西桂林 541001; 4.广州中医药大学科技产业园, 广州 510445)

中图分类号 R965.3 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)25-3512-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.25.17

摘要 目的:研究聚异丁烯(PIB)骨通贴膏经皮肤给药的安全性。方法:取66只家兔随机分为正常组、完整皮肤组、破损皮肤组,后2组再分为PIB组,PIB骨通贴膏低、中、高剂量组,骨通贴膏组,经皮肤给药24h后连续观察14d进行急性毒性实验;另取家兔60只,除不设置正常组外分组方法同上,采用自体左右侧对比法单次给药6h后,记录皮肤刺激反应,进行单次皮肤原发性刺激实验。取70只豚鼠随机分为阴性对照组(凡士林)、PIB组、阳性对照组(2,4-二硝基氯苯)、骨通贴膏组、PIB骨通贴膏低、中、高剂量组致敏给药后,进行皮肤致敏实验。结果:PIB骨通贴膏给药后家兔未见明显中毒表现;PIB、PIB骨通贴膏低、中剂量对完整皮肤和破损皮肤兔均未见刺激性反应,PIB骨通贴膏高剂量对完整皮肤兔未见刺激性反应,破损皮肤兔给药1h后有轻度刺激性;除阳性对照组豚鼠过敏反应发生率为100%外,其他各组过敏反应发生率均为0。结论:PIB骨通贴膏经皮肤给药安全性较好。
关键词 聚异丁烯;骨通贴膏;急性毒性实验;皮肤原发性刺激实验;皮肤致敏实验;安全性

Safety Study of Polyisobutylene Gutong Plaster by Transdermal Administration

DU Jieying^{1,2}, ZENG Sen³, WANG Lu³, SHU Lei⁴, ZHANG Shouya⁴, YUAN Jie⁴ (1.Guangzhou Women and Children's Medical Center, Guangzhou 510623, China; 2.School of Chinese Meterla Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510445, China; 3.Guilin Huarun Tianhe Pharmaceutical Co., Ltd., Guangxi Guilin 541001, China; 4.Sci-tech Industrial Park, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510445, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the safety of Polyisobutylene (PIB) Gutong plaster by transdermal administration. METHODS: 66 rabbits were randomly divided into a normal group, a group with intact skin and a group with damaged skin. The latter two groups were respectively re-divided into PIB group, the groups of low, medium and high-dose PIB Gutong plaster and Gutong plaster group. An acute toxicity test was conducted on the rabbits, which 14 d of continuous observation was made 24 h after transdermal administration. Another 60 rabbits were divided into several groups as above except for a normal group. A single primary skin irritation test was conducted on them, where skin irritation reactions were recorded 6 h after a single administration based on intra-individual left/right self comparison method. 70 guinea pigs were randomized into a negative control group (vaseline), a PIB group, a positive control group (2,4-dinitrochlorobenzene), a Gutong plaster group and the groups of low, medium and high-dose PIB Gutong plaster, which were dosed for sensitization, followed by a skin sensitization test. RESULTS: No obvious toxicity symptoms could be seen after administration of PIB Gutong plaster. The rabbits' intact or damaged skin had no irritation response to PIB and low and medium-dose PIB Gutong plaster. PIB Gutong plaster caused no irritation response in the rabbits' intact skin, but slight irritation in damaged skin 1 h after administration. The allergic reaction incidence of the positive control group of guinea pigs was 100% while that of any other groups was 0. CONCLUSIONS: The PIB Gutong plaster is safe for transdermal administration.

KEYWORDS Polyisobutylene; Gutong plaster; Acute toxicity test; Primary skin irritation test; Skin sensitization test; Safety

- [10] Yoder JD, Cifuentes JO, Pan J, *et al.* The crystal structure of a coxsackievirus B3-RD variant and a refined 9-angstrom cryo-electron microscopy reconstruction of the virus complexed with decay-accelerating factor (DAF) provide a new footprint of DAF on the virus surface[J]. *J Virol*, 2012, 86(23): 12 571.
- [11] 潘璐璐, 张园海, 岳亚延, 等. 硫化氢对柯萨奇病毒感染的病毒性心肌炎小鼠的保护作用[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2013, 33(9): 692.
- [12] 马方. 黄芪注射液和曲美他嗪治疗84例病毒性心肌炎的临床疗效观察[J]. *吉林医学*, 2015, 36(3): 406.
- [13] 刘海英, 刘丹莉, 高顺利. 黄芪注射液对急性病毒性心肌炎患儿血清IL-23、IL-17水平及Th17细胞的影响[J]. *实用医学杂志*, 2013, 29(16): 2 730.
- [14] 李芳, 易岂建. 黄芪对病毒性心肌炎小鼠心脏柯萨奇病毒和腺病毒受体表达的影响[J]. *临床心血管病杂志*, 2007, 23(3): 195.
- [15] 田琳, 何春枝, 李双杰, 等. 黄芪甲苷对病毒性心肌炎小鼠心肌中TLIA表达的影响及意义[J]. *中南大学学报: 医学版*, 2015, 40(2): 150.

* 中药师, 硕士研究生。研究方向: 中药新药开发。E-mail: fan-nyto@163.com

通信作者: 研究员。研究方向: 中药新药开发。E-mail: 466754442@qq.com

(收稿日期: 2015-10-27 修回日期: 2016-06-17)
(编辑: 林 静)